



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Actividad fotoprotectora de formulación tópica a base del extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L. (fresa)

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTORES

Thalia Marité MOYA CAHUANA

Rosa Isabel OSORIO OSCCO

ASESOR

Carlos Alejandro BELL CORTEZ

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Moya T, Osorio R. Actividad fotoprotectora de formulación tópica a base del extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L. (fresa) [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2017.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**"ACTIVIDAD FOTOPROTECTORA DE FORMULACIÓN TÓPICA A BASE DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE FRAGARIA VESCA L. (FRESA)"**

Que presentan las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

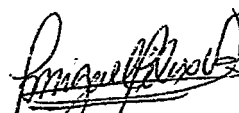
**THALIA MARITE MOYA CAHUANA Y
ROSA ISABEL OSORIO OSCCO**

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

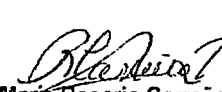
DIECISIETE (17) SOBRESALIENTE

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 28 de agosto de 2017.


Mg. Luis Miguel Visitación Félix Veliz
Presidente


Mg. Norma Angélica Carlos Casas
Miembro


Q.F. María Rosario Carreño Quispe
Miembro


Q.F. Denis Alain García Mayta
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú
Teléfonos: (511) 328-4737 / (511) 679-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



DEDICATORIA

A mi madre Victoria por haberme apoyado en todo momento, por sus valores, sus consejos, y por haberme permitido ser una persona de bien, pero más que nada por su amor incondicional.

A mi padre Dimas por los ejemplos de constancia y perseverancia que lo caracterizan y por el valor que siempre ha mostrado para salir adelante.

A mi hermana Lesli por estar conmigo y apoyarme siempre y sobre todo quien con sus ocurrencias y afecto me hacían continuar en esta travesía.

A mis maestros que marcaron cada etapa de mi camino universitario, por su gran apoyo y motivación para la culminación de mis estudios profesionales y en la elaboración de esta tesis.

Rosa

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante, enseñándome a encarar las adversidades sin desfallecer en el intento.

A mi familia quienes por ellos soy lo que soy. Para mis padres por su apoyo, consejos, comprensión, amor y ayuda en los momentos difíciles. Me han dado todo lo que soy como persona, valores, principios, carácter, empeño, perseverancia y coraje para conseguir mis objetivos.

A mi novio por acompañarme, apoyarme y alentarme cuando parecía que me iba a rendir.

A mi Abuela por enseñarme el camino de la vida, gracias por tus consejos, por el amor que me has dado y por llevarme en tus oraciones porque estoy segura que siempre lo haces.

Thalia

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

| | |
|--|----------|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. GENERALIDADES | 3 |
| 1. Antecedentes botánicos | 5 |
| 1.1. Clasificación botánica | 5 |
| 1.2. Descripción botánica | 6 |
| 1.3. Composición química de la fresa | 7 |
| 2. Radiación Solar | 10 |
| 2.1. Luz visible | 10 |
| 2.2. Radiación infrarroja (IR) | 10 |
| 2.3. Radiación ultravioleta (UVR) | 11 |
| 2.4. Índice ultravioleta | 14 |
| 3. Fotoprotección | 16 |
| 3.1. Protección artificial: ropa y gafas | 16 |
| 3.2. Protección natural: Capa de Ozono y piel | 17 |
| 4. Fotoprotección y filtros solares | 22 |
| 4.1. Los filtros solares físicos o inorgánicos (FSI) | 22 |
| 4.2. Filtros solares orgánicos o químicos (FSO) | 23 |
| 5. Fitocosméticos | 28 |
| 6. Antioxidantes | 32 |
| 6.1. Radicales Libres | 32 |
| 6.2. Antioxidantes naturales y cosméticos | 32 |

| | |
|--|-----------|
| 6.3. Compuestos fenólicos | 33 |
| 6.4. Método <i>in vitro</i> para evaluar la capacidad antioxidante | 35 |
| 7. Factor de Protección Solar (FPS) | 36 |
| 7.1. Método <i>in vivo</i> | 37 |
| 7.2. Método <i>in vitro</i> | 39 |
| 7.3. Investigaciones previas relacionadas al presente estudio | 40 |
| 7.4. Protección Solar: Normativa | 42 |
| III. PARTE EXPERIMENTAL | 46 |
| IV. RESULTADOS | 58 |
| V. DISCUSIÓN | 68 |
| VI. CONCLUSIONES | 73 |
| VII. RECOMENDACIONES | 74 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 75 |
| IX. ANEXOS | 92 |

RESUMEN

La exposición a la radiación ultravioleta A (UVA) y la radiación ultravioleta B (UVB) inducen lesiones discretas en el ADN y la generación de radicales libres que conducen a una amplia gama de enfermedades de la piel. La fresa (*Fragaria vesca* L.) contiene polifenoles con alta actividad antioxidante y antiinflamatoria. La presente investigación tuvo la finalidad de evaluar la actividad fotoprotectora de una formulación tópica a base de extracto hidroalcohólico del fruto de fresa. El extracto hidroalcohólico fue preparado por filtración en bomba de vacío, se evaporó el disolvente a 40°C y se realizaron pruebas preliminares de identificación de compuestos fitoquímicos. El contenido de polifenoles totales fue medido mediante el método espectrofotométrico de Folin - Ciocalteu usando el ácido gálico como materia de referencia obteniéndose como resultado 15,50 mg GAE/g. La actividad antioxidante del extracto evaluada por el método espectrofotométrico DPPH que se comparó con el estándar ácido ascórbico, dio como resultado el siguiente valor 81,22% de captación de radical libres para el extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L. La actividad fotoprotectora de las formulaciones tópicas desarrolladas fue evaluada según el método descrito por Mansur. El valor de FPS obtenido fue 12,05 el cual confirma la actividad fotoprotectora de los polifenoles totales de la fresa.

Palabras clave: *Fragaria vesca* L., DPPH, actividad fotoprotectora, polifenoles totales, GAE/g (Equivalente en mg de Ácido Gálico).

ABSTRACT

The exposure to ultraviolet A (UVA) and ultraviolet B (UVB) radiation induce DNA discrete DNA damage and the generation of free radicals leading to a wide range of skin diseases. The strawberry (*Fragaria vesca* L.) contains polyphenols with high antioxidant and antiinflammatory activity. The aim study had the purpose of evaluating the photoprotective activity of a topical formulation based on hydroalcoholic extract of the fruit of strawberry. The hydroalcoholic extract was prepared by filtration in vacuum pump, the solvent was evaporated at 40 °C and preliminary tests were performed for the identification of phytochemicals compounds. The total polyphenol content was measured by the spectrophotometric Folin - Ciocalteu method using gallic acid as reference material obtained as a result 15,50 mg GAE/g. The antioxidant activity of the extract assessed by spectrophotometric DPPH assays that was compared with the standard ascorbic acid resulted the following value 81,22% free radical capture for the hydroalcoholic extract of *Fragaria vesca* L. The photoprotective activity of the topical formulations developed was determined according to the method described by Mansur. The FPS value obtained was 12,05 that confirms the photoprotective activity of the total polyphenols strawberry.

Keywords: *Fragaria vesca* L., DPPH, photoprotective activity, total polyphenols, GAE/g (Equivalent in miligram gallic acid).

I. INTRODUCCIÓN

Los frutos de fresa destacan por ser una fuente importante de compuestos bioactivos debido a sus altos niveles de compuestos fenólicos y vitamina C. En este contexto, los frutos de *Fragaria vesca* L. representan una fuente vegetal con activos potenciales para ser usados como coadyuvante de los fotoprotectores solares, debido a su contenido de antioxidantes.

En el Perú no existen muchos estudios sobre productos naturales que puedan emplearse como fotoprotectores en formulaciones cosméticas. Teniendo en cuenta que es un país de extraordinaria variedad de recursos naturales, se debe aprovechar la oportunidad de desarrollar productos con valor agregado, tales como fotoprotectores naturales, que puedan brindar efectos beneficiosos o preventivos frente a enfermedades que pudieran estar relacionadas con el exceso de exposición a la radiación solar.

El uso de lociones y cremas fotoprotectoras es la forma cosmética más accesible y utilizada para la prevención del daño y perjuicios provocados por la exposición del epitelio a la radiación UV. El objetivo de elaborar una crema de protección solar a base de extracto de fresa acompaña la necesidad de desarrollar nuevos productos para la protección contra la radiación UV y sigue la tendencia mundial de producir cosméticos a partir de componentes naturales.

En el presente estudio, el extracto hidroalcohólico del fruto de *Fragaria vesca* L. fue investigado con el objetivo de demostrar su capacidad antioxidante y comprobar su acción fotoprotectora a través de la elaboración de cremas fotoprotectoras y la evaluación del producto desarrollado mediante un método *in vitro* para investigación del factor de protección solar (FPS).

Esta investigación se ha realizado gracias a la colaboración y asesoría de las Cátedras de Química Analítica, Farmacognosia y Medicina Tradicional y Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y de profesionales de Química Suiza Industrial (QSI).

1.1. Objetivo general:

Evaluar la actividad fotoprotectora de la formulación tópica a base del extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca L.* (fresa).

1.2. Objetivos específicos:

1. Obtener el extracto hidroalcohólico del fruto *Fragaria vesca L.*, determinar sus principales metabolitos secundarios por medio del screening fitoquímico y cuantificar los compuestos fenólicos totales.
2. Determinar la actividad antioxidante *in vitro* del extracto hidroalcohólico del fruto de *Fragaria vesca L.* por el método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil).
3. Diseñar formulaciones tópicas con extractos, filtros y sus respectivos placebos con la finalidad de medir la actividad fotoprotectora del extracto hidroalcohólico del fruto de *Fragaria vesca L.*
4. Determinar el valor del Factor de Protección Solar del producto formulado mediante el método espectrofotométrico de Mansur.

II. GENERALIDADES

El cáncer de piel es un problema de salud pública a escala mundial, según la Sociedad Americana de Cáncer es el más común entre todos los tipos de cáncer ⁽¹⁾. Actualmente se diagnostican unos 160 000 casos al año en todo el mundo (79 000 hombres y 81 000 mujeres) ⁽²⁾; De acuerdo a lo informado por el Instituto Nacional de Estadística e Informática, en Latinoamérica ocupa el tercer lugar de las causas de muerte; y en el Perú, el registro de Cáncer de Lima Metropolitana evidenció que los casos de cáncer a la piel registrados del 2000 al 2014 se ha incrementado casi en un 100% ⁽³⁾.

Basado en la problemática expuesta se hace necesario el uso de protectores solares con la finalidad de retardar en forma general el foto envejecimiento, daño celular, queratosis, etc. Para el efecto, ha venido usándose filtros de síntesis química, los cuales producen el ansiado efecto fotoprotector, sin embargo, los organismos regulatorios vienen limitando las concentraciones permisibles para su uso ya que circunstancialmente producen diversos efectos secundarios en la piel, tales como irritación cutánea y comedones ^(4, 5, 6).

Por esta razón se requiere evaluar el uso de materias primas de origen natural que puedan ser utilizados como alternativas de agentes fotoprotectores. Según la normativa de la Comunidad Andina. Decisión 516, artículo 21; se puede utilizar sustancias nuevas de origen subregional que no se encuentren consideradas en los listados internacionales reconocidos, siempre y cuando un país miembro apruebe su comercialización e informe de este hecho a los demás países miembros. De esta manera se impulsa un proceso de investigación y desarrollo basado en el uso sostenible de la inmensa diversidad biológica de los países andinos ⁽⁷⁾.

Se han desarrollado numerosos estudios sobre sustancias antioxidantes en la prevención de eritema cutáneo, siendo el espectro de acción de los antioxidantes superpuesto en el espectro de acción de la radiación UVA (320-340 nm) por lo que la eficacia fotoprotectora de los mismos no sólo estará determinada por la protección frente al eritema fotoinducido, sino también por la protección sobre los daños moleculares y sobre el ADN, derivados del estrés oxidativo generado por la radiación UV ⁽⁸⁾.

La sensibilidad del mundo científico al daño generado por el estrés oxidativo en todos los ámbitos de la salud y el hecho de que la radiación ultravioleta sea el agente más eficaz en la producción de daño cutáneo por estrés oxidativo, hace que actualmente se esté en la búsqueda permanente de sustancias antioxidantes que actúen tanto por vía tópica como sistémica ⁽⁹⁾.

En este sentido, el extracto del fruto de fresa, además de su conocido poder antioxidante debido a su alto contenido en polifenoles ha demostrado también coadyuvar en el proceso de protección solar ⁽¹⁰⁾, ya que de igual manera que otros antioxidantes, éstos actúan frenando o reparando procesos oxidativos como peroxidación lipídica, alteración de proteínas estructurales y daños en el ADN que son generados básicamente por la radiación UVA; su capacidad de bloqueo frente a los rayos UVB es muy limitada, por tanto no van a evitar la aparición de eritema; sin embargo este hecho no excluye que los antioxidantes actúen como fotoprotectores, sustancia capaz de prevenir daño cutáneo fotoinducido, ya que protegen a la piel de procesos intermedios celulares y moleculares lesivos para la misma y donde los fotoprotectores tópicos con FPS de síntesis química no pueden actuar. Su importancia se

hace más relevante si tenemos en cuenta que la cantidad de rayos UVA que recibimos es 10 veces mayor que la de UVB ⁽¹¹⁾.

1. ANTECEDENTES BOTÁNICOS

1.1. El género *Fragaria*: Clasificación botánica y distribución geográfica

El género *Fragaria* (*Fragaria spp.*, del latín *fragans*, oloroso) pertenece a la familia Rosaceae, que agrupa unas 3000 especies de 107 géneros diferentes, distribuidas en su mayor parte en las zonas cálidas del hemisferio norte. ⁽¹²⁾

La fresa es una planta dicotiledónea del género *Fragaria*. Su clasificación taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988) es la siguiente:

DIVISIÓN: *Magnoliophyta*

CLASE: *Magnoliopsida*

SUBCLASE: *Rosidae*

ORDEN: *Rosales*

FAMILIA: *Rosaceae*

GÉNERO: *Fragaria*

ESPECIE: *Fragaria vesca L.*



Figura 1. Distribución geográfica de las especies de la familia Rosaceae.

Fuente: Website. Versión 13, September 2013. ⁽¹³⁾

1.2. Descripción botánica

La fresa es una planta perenne de pequeño porte, que se reproduce de manera sexual y asexual (mediante el desarrollo de estolones). Aunque tradicionalmente se considera como una planta herbácea, en realidad se trata de una especie leñosa perenne con las mismas o similares pautas fisiológicas que los árboles y arbustos frutales de hoja caduca ⁽¹³⁾.



Figura 2. Esquema de *Fragaria vesca* L.

Fuente: Website. USDA NRCS ⁽¹⁴⁾

El tallo está comprimido en una roseta basal o corona, de la que surgen en estrechos intervalos, hojas trifoliadas dentadas de haz glabrescente y envés con pelos aplicados, cuyos peciolo pueden alcanzar los 20 cm de altura.

En las axilas de las hojas se desarrollan yemas o meristemos axilares. Estas yemas, dependiendo del estado nutricional y de las condiciones ambientales, evolucionan de diferente manera: permanecen aletargadas o desarrollan estolones, ramas, o eventualmente nuevas plantas. Se reproduce sexualmente mediante la formación de inflorescencias generalmente hermafroditas, pequeñas, en cima dicasial o monocasial, de pétalos blancos y receptáculo amarillo.

El fruto de fresa pertenece a la categoría de los no climatéricos, por lo que no completará su madurez comercial una vez recolectado. El ciclo de vida de esta planta es corto (de doce a veinte semanas por generación) ⁽¹⁵⁾.

1.3. Composición química de la fresa

Dentro de sus principales compuestos fitoquímicos se encuentran una extensa clase de compuestos fenólicos que poseen diversas funciones no esenciales en las plantas, sin embargo representan enormes potencialidades biológicas en los seres humanos ⁽¹⁶⁾. La principal clase de compuestos fenólicos es representada por los flavonoides, principalmente antocianinas, flavonoles y flavonoides, seguido de taninos hidrolizables (ácido gálico y galotaninos), ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzoico y ácido hidroxicinámico) y taninos condensados (proantocianidinas) siendo constituyentes menores. ⁽¹⁷⁾

1.3.1 Antocianinas

Las antocianinas son los compuestos polifenólicos cuantitativamente más importantes en la fresa. Muchos estudios han determinado el contenido de antocianinas totales, reportando valores entre 150 y 600 mg / kg de peso fresco; sin embargo otras investigaciones han hallados valores de hasta 800 mg / kg de peso fresco.

Cabe mencionar que existen más de 25 tipos de pigmentos de antocianinas descritos en diferentes variedades de fresa; siendo la principal antocianina independientemente de factores edáficos, genéticos y ambientales, la pelargonidina-3-glucósido y en proporciones más pequeñas, la cianidina-3-glucósido ^(18,19).

1.3.2. Otros compuestos fenólicos

Aunque en cantidades menores las fresas contienen otros compuestos fenólicos. El contenido y composición de flavonoles han sido objeto de muchos estudios, y entre estos compuestos se identifican los derivados de la quercetina y kaempferol.

Flavonoles acilados tales como quercetina-3-malonilglucósido, kaempferol-3 malonilglucósido y kaempferol-cumaril-glucósido se han encontrado también en algunos cultivos de fresa ⁽²⁰⁾. Los flavanoles son la única clase de flavonoides que no se producen naturalmente. En cuanto a los glucósidos encontrados en las fresas, estos se presentan en monómeros (catequinas) y en formas poliméricas llamados taninos condensados o procianidinas.

Por último también se encuentran en las fresas una variedad de ácidos fenólicos, como lo son los derivados del ácido hidroxicinámico (ácido cafeico) y ácido hidroxibenzoico (ácido gálico) ⁽²¹⁾.

Tabla 1. Composición polifenólica de la fresa

| Clase | Grupo | Compuestos |
|----------------------|-----------------------|--|
| Flavonoids | Anthocyanins | Cyanidin-3-glucoside Cyanidin-3-rutinoside Cyanidin-3-malonylglucoside Cyanidin-3-malonylglucosyl-5-glucoside Pelargonidin-3-galactoside Pelargonidin-3-glucoside Pelargonidin-3-rutinoside Pelargonidin-3-arabinoside Pelargonidin-3,5-diglucoside Pelargonidin-3-malonylglucoside Pelargonidin-3-malonylglucoside Pelargonidin-3-acetylglucoside Pelargonidin-dissacharide (hexose p pentose) acylated with acetic acid 5-pyranopelargonidin-3-glucoside |
| | Flavonols | Quercetin-3-malonylglucoside Quercetin-rutinoside Quercetin-glucoside Quercetin-glucuronide Kaempferol-3-glucoside Kaempferol-3-malonylglucoside Kaempferol-coumaroyl-glucoside Kaempferol-glucuronide |
| | Flavanols | Proanthocyanidin B1 (EC-4,8-C) Proanthocyanidin trimer (EC-4,8-EC-4,8-C) Proanthocyanidin B3 (C-4,8-C) (p)-catechin |
| Phenolic acids | Hydroxycinnamic acids | p-coumaroyl hexose |
| Hydrolyzable tannins | Ellagitannins | Ellagitannin Bis-HHDP-glucose Galloyl-HHDP-glucose HHDP-galloyl-glucose Galloyl-bis-HHDP-glucose Dimer of galloyl-bis-HHDP Sanguin H-6 Methyl-EA-pentose conjugates Ellagic acid pentoside Ellagic acid |

Fuente: Mattila P, Hellstrom J ⁽²⁰⁾

2. RADIACIÓN SOLAR

La luz solar está conformada por un espectro electromagnético de diferentes longitudes de onda, que comprende desde los rayos gamma (10^{-24} m) hasta las ondas de radio (10^7 m) ⁽²²⁾. De acuerdo a la capacidad de ionización atómica, podemos distinguir dos regiones principales: la radiación ionizante y no ionizante ⁽²³⁾.

La radiación ionizante incluyen a los rayos cósmicos, cuyo poder permite atravesar el globo terrestre; los rayos gamma, que pueden destruir tejidos y seres vivos; y los rayos X, cuyo poder permite atravesar partes del cuerpo ⁽²⁴⁾. Con respecto a la no ionizante, se analizan en tres áreas clave: La luz visible (VIS), ultravioleta (UV) e infrarroja (IR) ⁽²⁵⁾.

2.1. Luz visible

Esta pequeña banda, también llamada VIS es el conjunto de radiaciones capaz de causar sensación visual. La radiación visible está compuesta de longitudes de onda entre 400 y 780 nm, que representa el 40% de la radiación que emana del sol ⁽²⁶⁾.

2.2. La radiación infrarroja (IR)

Es una banda ancha que representa cerca del 50% del espectro solar y que contiene longitudes de onda entre 800 y 5000 nm. Es fuertemente absorbida por el vapor de agua y el gas carbónico presente en cantidades significativas en la atmósfera, por tanto es responsable del transporte de calor del sol a la

superficie de la tierra, además se encuentra íntimamente relacionada con los cambios climáticos ^(23,24).

2.3. La radiación ultravioleta (UVR)

Este tipo de radiación puede derivar de fuentes naturales (Sol) o artificiales (cámaras de bronceado), presentan longitudes de onda entre 100 y 400 nm, Es importante mencionar que ésta representa alrededor del 10% de la radiación solar que llega a la superficie de la atmósfera.

Según el Comité 41 de la CIE de 1930, la radiación se encuentra dividida en tres grupos, de acuerdo a los diferentes efectos fotobiológicos que pueden producir estas bandas espectrales: radiación UVA (Longitud de onda de 320 a 400 nm), UVB (Longitud de onda de 280 a 320 nm) y UVC (Longitud de onda de 100 a 280 nm) ^(25, 26,27).

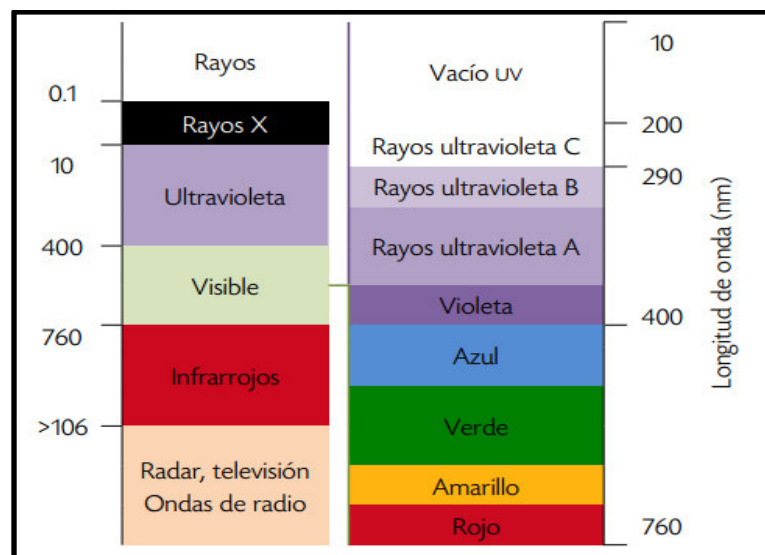


Figura 3. Espectro electromagnético.

Fuente: Modificada de Hornung ⁽²⁷⁾

2.3.1. La radiación ultravioleta A (UVA)

Se sitúa entre los 320-400 nm, que corresponde a longitudes de onda más largas. Ésta representa una gran parte del espectro, aproximadamente el 90-95% de la luz incidente UV en la superficie terrestre, ya que no es absorbida por la capa de ozono ^(24, 28, 29). Además, mantiene una intensidad constante durante todo el año e incluso durante el día ^(30, 31).

Se subdivide en corto UVA o UVA-II (320-340 nm), responsable de la mayoría de los efectos fisiológicos de la piel y la larga UVA o UVA-I (340-400 nm), de menor energía, pero que causa cambios de la dermis ^(22, 32).

2.3.2. La radiación ultravioleta B (UVB)

Conformado por aquellas longitudes de ondas intermedias que van de 290 a 320 nm. Representa aproximadamente el 5% del total de la radiación UV que alcanza la superficie terrestre y es responsable de causar daño directo al ADN, fotoinmunosupresión, eritema, engrosamiento de la capa córnea y la melanogénesis. También se encuentra relacionado a una variedad de trastornos de la piel, incluyendo diversos tipos de cánceres de piel ⁽²⁸⁾.

2.3.3. La Radiación ultravioleta C (UVC)

Se sitúa entre 100 a 290 nm, compuesta por longitudes de onda más cortas y de más alta energía de las tres escalas que conforman la UVR ⁽³³⁾. Es altamente perjudicial para el hombre, ya que se encuentran relacionadas a efectos carcinógenos y mutágenos. Sin embargo, esta radiación no llega a la superficie de la tierra porque es absorbida por el oxígeno y el ozono

estratosférico, que atenúan estos efectos tan perjudiciales para la salud humana. Por otro lado, los rayos UVC son menos eritemogénicos pero altamente germicidas ^(21, 22, 24, 34), debido a ello se aprovecha su acción bacteriostática y bactericida, en la medicina, mediante el uso de lámparas germicidas.

En los últimos años se observa una tendencia mundial en la reducción de la capa de ozono, que actúa como un filtro para la atenuación de la radiación ultravioleta. Su estudio ha despertado la atención de la comunidad científica, debido a la posibilidad de un aumento en la intensidad de la radiación ultravioleta sobre la superficie de la tierra, que contribuyen a la aparición de quemaduras solares y el envejecimiento prematuro de la piel ^(29, 35).

2.3.4. Efectos nocivos de la radiación UV

Los efectos nocivos que produce la radiación solar pueden ser divididos en efectos inmediatos y efectos a largo plazo.

Dentro de los efectos inmediatos, se incluye a las quemaduras o eritemas solares, bronceado y reacciones de fotosensibilidad. Si bien estos efectos suelen ser temporales y de poca relevancia a corto plazo, de acuerdo a una serie de estudios se observa una relación existente entre la frecuencia de padecer este tipo de episodios y el desarrollo de múltiples enfermedades a la piel como queratosis, melanomas e incluso cáncer de piel ^(28, 31, 36). En cuanto a los efectos a largo plazo se distinguen el fotoenvejecimiento, como resultado de la exposición repetida a la luz solar y la fotocarcinogénesis, que si bien puede ser de origen multifactorial, tiene como principal agente etiológico a la radiación solar ^(23, 28, 37).

2.3.5. Efectos benéficos de la radiación UV

La exposición a la luz solar como se menciona en el punto anterior, se ha relacionado con el desarrollo de cánceres de piel, fotoenvejecimiento, entre otros. Sin embargo, la exposición a los rayos del sol también tienen efectos beneficiosos, si ésta se realiza de manera moderada. Entre las más importantes se distingue el rol que cumple en el sistema nervioso, siendo importante para la actividad intelectual y como antídoto para la depresión; promueve el engrosamiento de la capa córnea de la epidermis, formando una barrera contra los rayos UV; promueve la producción de melanina, previene la dermatosis (psoriasis), actúa como bactericida y antiséptico (tiña versicolor); estimula la circulación y por último promueve la síntesis de vitamina D ⁽²³⁾.

2.4. Índice ultravioleta

Debido a la necesidad de analizar los niveles UVR que inciden sobre la superficie terrestre y que esta información esté y sea comprensible al público. En 1992, investigadores canadienses crearon el Índice Ultravioleta (UVI), que rápidamente comenzó a ser utilizado como fuente de información valiosa para un gran número de países, además de una herramienta de prevención de salud ^(38, 39).

El UVI es una escala de calificación numérica, adimensional que define cuantitativamente la incidencia de la UVR, con unidades que van entre 0 y 16. Sin embargo es importante destacar que no existe límite superior, cuanto mayor sea el valor, mayor es el potencial de daño solar a la piel y los ojos.

Las variables que influyen en el cálculo o medición del UVI que deben tenerse en cuenta son el contenido total de ozono en la atmósfera, así como

la posición geográfica de la ubicación (mientras más cerca se esté de la Línea del Ecuador, mayor será la UVI); la altitud de la superficie (en altitudes elevadas se observan superiores UVI); la hora del día (la mayor parte de la radiación UV llega a la superficie al mediodía); estación del año (la UVI se intensifica en verano y disminuye en el invierno); las condiciones atmosféricas (la UVI son generalmente más altos en días de cielo despejado); y el tipo de superficie ⁽⁴⁰⁾.

El valor UVI está relacionada en forma directa al valor FPS que debe ser utilizado por las personas en el momento requerido ⁽⁴¹⁾.












| UV INDEX | WHAT TO DO |
|--|--|
| EXTREME UV 11  | Intensive protection is required. Avoid sun exposure close to noon time. T-shirt, sunscreen, sun glasses and hat are extremely necessary. |
| VERY HIGH UV 8  UV 9  UV 10  | |
| HIGH UV 7  UV 6  | |
| MODERATE UV 5  UV 4  UV 3  | |
| LOW UV 2  UV 1  | No protection is required. However, look for a shaded place at times |

Figura 4. Índice ultravioleta y Recomendaciones.

Fuente: Website, http://www.who.int/uv/intersunprogramme/activities/uv_index/en/index1.html ⁽⁴²⁾

3. FOTOPROTECCIÓN

La fotoprotección en la actualidad, tiene como pilares fundamentales a tres elementos que nos permitirán minimizar los efectos nocivos de la radiación UV, estos incluyen el comportamiento adecuado durante la exposición a la luz solar, el uso de ropa y el uso de productos cosméticos que contengan protección solar.

No obstante para protegerse de la radiación solar es crucial evitar la exposición a la luz solar mediante la búsqueda de sombra, además de reducir el tiempo de exposición, especialmente durante determinadas horas del día.

3.1. Protección artificial: ropa y gafas

Un elemento importante de fotoprotección es la correcta elección y uso de ropa que proporcione una protección adecuada contra los rayos UVA y UVB. Una ventaja que podríamos señalar en comparación con las cremas, que este elemento presenta es que la ropa no causa alergias ni irritaciones. Sin embargo, no todas las telas proporcionan la misma protección contra el sol⁽⁴³⁾.

La capacidad fotoprotectora dependerá de los diferentes tipos de composición de las telas, los materiales sintéticos deben ser elegidos sobre las fibras naturales, ya que reflejan y bloquean la radiación con mayor eficacia. Además también influirá el tejido de las telas, el color (colores más claros reflejan los rayos solares, en cambio los oscuros absorben mayor radiación), el grosor y la humedad de la telas⁽⁴⁴⁾.

Otros elementos importantes que pueden protegernos de la radiación solar son los sombreros de ala ancha, no sólo para proteger el cuero cabelludo sino para proteger la piel de la frente, las mejillas, cuello y la nariz, mientras que los guantes son útiles para prevenir la aparición de signos de fotoenvejecimiento en las manos ⁽⁵⁾.

En cuanto a las gafas de sol, es importante su utilización ya que nos ayuda a proteger la piel del contorno de los ojos, los párpados y los ojos con la finalidad de evitar posibles enfermedades oculares.

La exposición crónica a la luz UV puede conducir a cambios en los órganos de la visión: córnea, conjuntiva, retina, etc ⁽⁴⁵⁾. La FDA (Food and Drug Administration) ha definido ciertos parámetros para las gafas de sol: permisividad inferior a 0,001% para longitudes de onda entre 200 y 320 nm y menos de 0,01% para longitudes de onda entre 320 y 400 nm ^(46,47).

3.2. Protección natural: Capa de Ozono y Piel

3.2.1. Capa de Ozono

La capa de Ozono es el nombre asignado a la región con alta concentración de este gas, se encuentra situada a una altura entre 15 y 30 Km de la superficie terrestre y contiene aproximadamente entre el 80 y 90 % de la totalidad del ozono atmosférico que es responsable de la absorción de la radiación UVB y parte de la radiación UVC ⁽⁴⁸⁾.

Durante la década de 1980 los científicos observaron que la capa de ozono estaba fuertemente disminuida en las regiones de latitudes altas, especialmente en los polos; esto debido al advenimiento de la

industrialización y por la emisión excesiva de sustancias antropogénicas, principalmente por el cloro libre liberado por los clorofluorocarbonos (CFC), utilizados intensamente en la fabricación de propulsores y para la refrigeración de líquidos en todo el planeta ⁽⁴⁰⁾.

Debido a ello en 1987 fue establecido el Protocolo de Montreal, con la finalidad de prohibir la producción y el consumo de CFC y otros gases que destruyen la capa de ozono. La adhesión de las naciones al Protocolo fue masiva y la eliminación del consumo de CFC ha permitido una recuperación de los niveles de ozono en todo el planeta.

Un estudio realizado por UK Química y Aerosoles muestra que el Protocolo de Montreal podría prevenir la aparición de dos millones de nuevos casos de cáncer de piel para el año 2030 ^(48,49).

3.2.2. Piel Humana

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, esencial para la vida ya que aísla los órganos del medio ambiente.

Posee principalmente dos partes:

Epidermis: Es la capa más externa de la piel y la primera que recibe la radiación solar. Se encuentra esencialmente compuesta por un tejido epitelial estratificado y queratinizado.

Según el grado de maduración de las células epiteliales, la epidermis muestra cinco capas desde el exterior hacia el centro: el estrato córneo (5); capa lúcida (4); capa granulosa (3); capa espinosa (2) y la capa base (1) ^(50, 51).

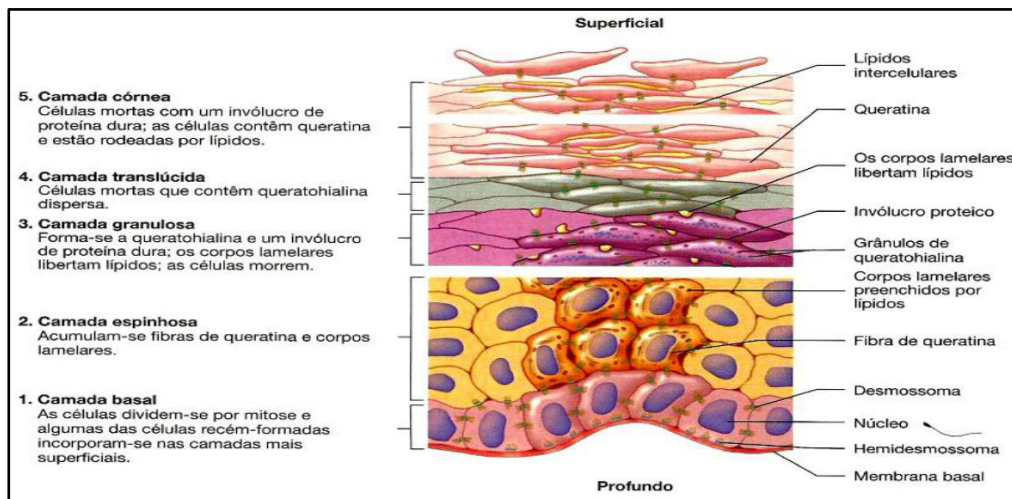


Figura 5. Ilustración de las capas de la Epidermis

Fuente: Seeley. et al. ⁽⁵²⁾

En resumen, la epidermis tiene numerosas funciones de protección: Impermeabilidad contra el paso de fluidos y productos químicos a través del estrato córneo; barrera contra la radiación ultravioleta (UVR) y finalmente como barrera inmunológica. También se asocia con la retención de agua y electrolitos.

Dermis: Comprende una red vascular (vasos sanguíneos y linfáticos) y fibras nerviosas que nutren la piel.

También se encuentra en ella las glándulas sebáceas, sudoríparas y los folículos pilosos ^(23, 31, 50).

Cuando la radiación Ultravioleta incide en la piel, parte de la energía es reflejada, la radiación UVB es absorbida por los componentes celulares de la epidermis (proteínas y ADN) y la radiación UVA penetra profundamente en la piel alcanzando la capa basal de la epidermis y la dermis, incluyendo fibroblastos. Por lo tanto, es posible identificar la exposición UVR como factor

de riesgo para el desarrollo de cáncer de piel, sin embargo los rasgos fenotípicos y los factores genéticos pueden contribuir a la atenuación de estos daños ⁽²¹⁾.

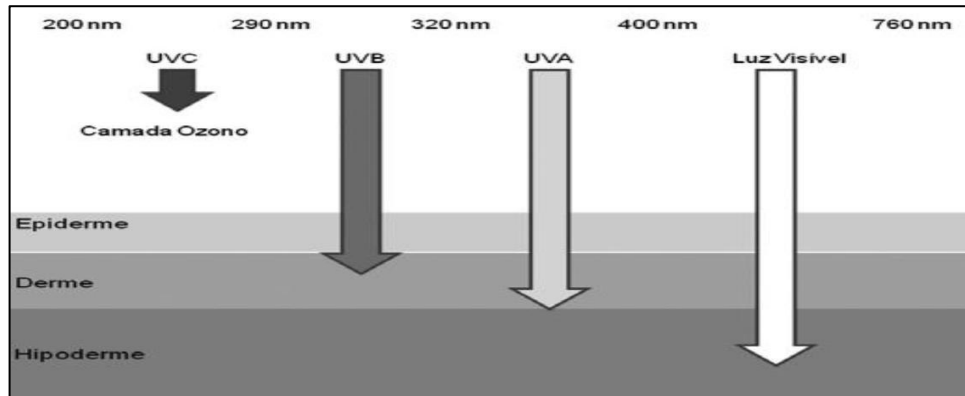


Figura 6. Capacidad de penetración de la luz solar sobre la piel

Fuente: adaptado de Cravo, et al. ⁽⁵³⁾.

En la fotoprotección natural de la piel humana intervienen diferentes mecanismos como son el engrosamiento de la piel, la melanina, el ácido urocánico y los fototipos de la piel.

Debido a la incidencia de la luz solar sobre la piel, la epidermis cambia su estructura, por lo que el estrato córneo se torna más compacto, las células epiteliales más cohesivas y la descamación se reduce. Después de exposiciones repetidas, los queratinocitos proliferan, causando el engrosamiento de la epidermis. Esta alteración fisiológica dificulta la penetración de las radiaciones eritematogénicas proporcionando protección a la piel contra los rayos UVB y UVC ^(54, 55).

El ácido urocánico (UCA) es un producto de degradación metabólica de aminoácidos ricos en histidina presente en la piel. Después de la exposición a la radiación UV, la forma trans-UCA se transforma en isómero cis-UCA, esta

conversión dispersa eficazmente la energía de los fotones. Cabe resaltar que ambos isómeros del UCA poseen propiedades fotoprotectoras similares ^(56, 57).

La melanina existente en la piel, cabello y ojos es crucial para la fotoprotección, en función de la cantidad y de la distribución de la melanina, ésta actúa como un filtro solar que capta y estabiliza los radicales libres generados por la radiación solar ⁽³¹⁾.

Existen dos tipos de melanina: la eumelanina (pigmento de personas de piel oscura) y la feomelanina (pigmento de personas pelirrojas o rubias). Ante la exposición a la radiación UV, la eumelanina brinda una mayor protección con respecto a la feomelanina, siendo la razón por la que las personas de piel clara presentan mayor riesgo de daños en la piel ya que se asocia con la producción de ROS ⁽²³⁾.

El bronceado de la piel es un mecanismo de protección contra la radiación. Esta puede llevarse a cabo en dos etapas: En la primera etapa se produce el oscurecimiento de la melanina preexistente en las capas superficiales, por foto-oxidación, debido a la acción de los rayos UVA, lo que acelera la transferencia de la melanina a los queratinocitos circundantes. En una segunda etapa, se procesa la pigmentación de la melanina adquirida, que provoca un bronceado sin necesidad de una nueva exposición solar.

Con la finalidad de definir los fototipos de piel, el dermatólogo estadounidense Fitzpatrick estableció un sistema de clasificación basándose en la cantidad y tipo de melanina producida por cada individuo ^(22, 50, 58).

Las características de los fototipos de piel se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 2. Fototipos de Piel

| Fototipos | Color de piel | Respuesta al sol | Sensibilidad | Personas expuestas |
|------------------|-----------------------|--|-----------------------------------|--|
| I | Muy blanca | Siempre se quema, nunca se broncea | Muy sensible | Individuos albinos y pelirrojos |
| II | Blanca | Siempre se quema, mínimo bronceado | Muy sensible | Individuos rubios |
| III | Blanca a morena clara | Se quema y broncea moderadamente | Sensible | Individuos blancos |
| IV | Morena clara | Se quema poco, se broncea siempre | Poco sensible | Morenos latinos |
| V | Morena oscura | Raramente se quema, se broncea siempre | Muy poco sensible | Árabes mediterráneos, mestizos y asiáticos |
| VI | Negra | Nunca se quema, siempre se broncea | Menos sensible que las anteriores | Individuos africanos |

Fuente: modificada de Purim S, Leite N. ⁽²²⁾

Sin embargo a pesar de la existencia de la fotoprotección natural, los seres vivos no estamos protegidos totalmente contra la radiación ultravioleta, es así que en respuesta a esta necesidad de protección, se desarrollan los protectores solares.

4. FOTOPROTECCIÓN Y FILTROS SOLARES

4.1. Los filtros solares físicos o inorgánicos (FSI)

Los filtros solares físicos son sustancias de origen mineral, que actúan sobre el principio de reflexión y dispersión de la radiación. Sus moléculas son grandes, por lo que no penetran en la piel, es así que forman una barrera contra la radiación UV, por esta razón se consideran más seguros en comparación con los filtros químicos ⁽⁵⁹⁾.

Dentro de estos filtros físicos se incluye a los Óxidos de Hierro, talco, caolín, mica, al Dióxido de titanio (TiO_2) y al Óxido de Zinc, entre otros ⁽⁶⁰⁾. Estos dos últimos, son los más resaltantes del grupo y ambos son de color blanco nieve e insolubles en agua, aunque cabe resaltar que actualmente el único aceptable es el dióxido de titanio ^(61, 62, 63).

Hoy en día se puede utilizar este tipo de filtros en forma micronizada, sin embargo, se pueden producir reacciones fotoquímicas debido a las especies reactivas del oxígeno (ROS) y contribuir en la reducción de la eficacia de fotoprotección; para evitar estas reacciones se suele cubrir las partículas con silicona; además los nuevos métodos han permitido el desarrollo de filtros naturales de mayor calidad, como por ejemplo la cera de carnauba inorgánica, que actúa sinérgicamente con dióxido de titanio, proporcionando una dispersión sólida de micropartículas. Esta combinación proporciona una viscosidad ideal y aumenta la actividad protectora ⁽⁶⁾.

Las formulaciones fotoprotectoras que contienen este tipo de filtros, son convenientes para niños y para personas adultas con alergias, debido a su baja penetración y posterior degradación de estas sustancias en el cuerpo ^(62, 63).

4.2. Filtros solares orgánicos o químicos (FSO)

Los filtros químicos son moléculas de estructura aromática que poseen un grupo carboxilo que sufre isomerización bajo la influencia de energía absorbida de la radiación. Los rayos menores a 380 nm son absorbidos y convertidos en energía térmica, mientras que la parte restante de la radiación con una longitud de onda mayor que 380 nm (visible e IR) es reflejada ⁽⁶⁴⁾.

En comparación con los filtros inorgánicos, éstos presentan un mayor potencial de sensibilización, mayor riesgo de absorción cutánea y menor fotoestabilidad, que dependerá de su estructura química y de la combinación de activos en una formulación.

Recientemente, una nueva generación de filtros orgánicos presenta una mayor fotoestabilidad y menor potencial de infiltración dérmica, reduciendo sustancialmente el riesgo de desarrollar sensibilización. Dependiendo de su estructura molecular, los filtros orgánicos pueden absorber mejor la radiación UVB o la radiación UVA. Algunas moléculas más recientes son capaces de producir picos de absorción de los rayos UVA y UVB; por esa razón, se llaman de amplio espectro ⁽⁶⁵⁾.

4.2.1. Filtros orgánicos anti UVA

En este grupo se encuentra las benzofenonas (oxibenzona, sulisobenzona, dioxibenzona), Meridamato, avobenzona (anti rayos UVA-I) y ecamsule (anti rayos UVA-II) ⁽³²⁾.

Las Benzofenonas son un grupo de cetonas de amplio espectro de acción anti-UVA. En la Unión Europea, los más utilizados son la Oxibenzona y la sulisobenzona; sin embargo, este filtro tiene que ser mencionado específicamente en la etiqueta como "contiene Oxibenzona" debido a que se encuentra relacionado a efectos nocivos sobre la piel (irritación dérmica) y sobre organismos acuáticos, por esta razón muchas marcas de filtros solares reemplazan este agente en su formulación ^(66, 67).

Otro compuesto muy utilizado perteneciente a los Dibenzoilmetanos o dicetonas es la Avobenzona, posee un perfil de absorción de 310 nm a 400 nm, proporcionando una protección contra los rayos UVA-I.

A pesar de su eficiencia es fotolábil, pudiendo sufrir una fotodegradación importante con pérdida de 50% a 90% de la molécula.

Además, también puede afectar a la estabilidad de los otros solares cuando se combinan en la misma formulación. Para resolver esta fotoinestabilidad y estabilizar una formulación la avobenzona es frecuente combinada con agentes tales como octocrileno y Tinosorb S ^(68, 69, 70).

4.2.2. Filtros orgánicos anti UVB

Este tipo de filtros orgánicos ofrecen protección contra la radiación absorbiendo la energía de los rayos UVB y convirtiéndola en calor. Este grupo incluye al PABA y derivados, cinamatos, salicilatos, octocrileno, ensulizol y derivados de alcanfor ⁽³²⁾.

El primer filtro aprobado por la FDA y uno de los principales filtros anti UVB es el PABA (ácido p-aminobenzoico), con un pico de absorción a 283 nm. Este agente es eficaz contra los rayos UVB, resistente a la inmersión en agua y al sudor, sin embargo, presenta ciertas limitaciones: penetra la piel debido a su alta capacidad de unirse a los queratinocitos, mancha la ropa, su uso incluye un vehículo alcohólico (hasta 60% en alcohol, debido a su pobre solubilidad en agua); puede causar reacciones adversas como dermatitis fotoalérgicas y alergias de contacto ^(29, 67, 68, 69, 71).

Estas razones hicieron que por los años 80 el uso de PABA se limitara, surgiendo así productos con denominación “Libre de PABA”, más adelante se introdujeron los ésteres de PABA que tienen menor reactividad y alergenidad ⁽⁶⁸⁾.

Los Cinamatos surgieron para sustituir a los derivados del PABA ⁽²⁹⁾, caracterizándose por causar baja irritabilidad; poseen algunas limitaciones como la fotoinestabilidad, baja resistencia al agua, reaplicación frecuente ⁽⁶⁹⁾.

Los más utilizados son el Octinoxato y cinoxato. El Octinoxato, tiene un pico de absorción máximo a una longitud de onda de 311 nm, siendo el absorbente de UVB más potente actualmente en uso. Por otro lado, el Cinoxato tiene un pico máximo de absorción a 289 nm, sin embargo es menos usado como filtro solar ^(55, 56).

Los Octocrilenos, también llamados 2-etilhexil-2-ciano-3,3-difenilacrilatos, funcionan bloqueando la transmisión de la radiación ultravioleta entre 290-360 nm, con un pico de absorción máximo a 303 nm ^(56, 67). En cuanto a sus características podemos decir que es un compuesto apolar, adecuado para el uso en protectores solares resistentes al agua. Por otro lado, es fotoestable ⁽⁵⁶⁾, con una baja tendencia a causar irritación cutánea, fototoxicidad o alergia. Otra ventaja asociada con este agente es que puede ser fácilmente incorporado en formulaciones fotoprotectoras de tipo gel.

Los principales inconvenientes están relacionados con su dificultad en la producción debido a que es difícil de integrar en los protectores solares además, desde un punto de vista económico, es caro, lo que impide su uso en gran escala ^(67, 69).

4.2.3. Filtros solares de amplio espectro

Con la finalidad de obtener filtros que ofrezcan una protección más completa, tanto en el rango UVA como UVB, es que surge una nueva generación de filtros, que debido a su propiedad dual de fotoprotección, presentan dos picos de absorción ⁽⁷²⁾.

En el grupo de filtros de amplio espectro se incluyen a las benzofenonas y a los derivados del ácido fenil benzotiazol.

El primer protector solar de amplio espectro disponible en Europa fue el Mexoryl XL, derivado del ácido fenil benzotiazol, también llamado Drometrizol trisiloxano ⁽⁶⁷⁾. Está compuesto por dos grupos químicos: 12-hidroxifenilbenzotiazol que absorbe los rayos UVA y UVB y la cadena de Siloxano, caracterizada por ser lipofílica. Su espectro de absorción está situado entre longitudes de onda de 290-320 nm, con un pico máximo de absorción a 303 nm y de 344 nm en 320-360 nm ⁽⁷¹⁾. Otras características importantes de este filtro son su fotoestabilidad, mayor eficacia en el intervalo UVA-II y el incremento de su capacidad fotoprotectora en combinación con el Mexoryl SX en el rango UVA ⁽⁶⁸⁾.

El Tinosorb M o también llamado bisotriazol ⁽⁷³⁾, pertenece a la primera clase de filtros que combina filtros orgánicos e inorgánicos, por tanto refleja, absorbe y dispersa la radiación UV. Absorbe gran parte del espectro UVA y UVB, sin embargo, la absorción es más efectiva en el UVB con una longitud de onda máxima a 360 nm y 303 nm.

Con respecto a sus características, al igual que el Tinosorb S, es fotoestable, además debido a que sus partículas son relativamente grandes, la absorción sistémica es muy baja ⁽⁷¹⁾.

El Tinosorb S, también llamado Anisotriazina, es un protector muy similar al Tinosorb M, ofrece protección contra los rayos UVB (máximo λ de 310 nm) y los rayos UVA (máximo λ de 343 nm) ^(56,71). Se considera un protector solar fotoestable que a su vez puede aumentar esta característica cuando se combina con Avobenzona y OMC. La concentración máxima autorizada en los productos cosméticos al igual que el Tinosorb M es también del 10% ^(29, 71).

Ambos Tinosorbs actúan como compuestos activos para la prevención del envejecimiento de la piel ⁽⁶⁸⁾, además poseen alta estabilidad debido a su estructura molecular, lo que facilita la disipación de energía incidente en la transferencia de calor y la relajación vibracional intramolecular; por lo tanto, no se forman ROS o productos de descomposición fotocatalíticas.

5. FITOCOSMÉTICOS

La palabra fitocosméticos deriva de la palabra griega *kosmein* que significa decorar y de *fitos* que significa planta ⁽⁷⁴⁾.

En las últimas décadas se ha incrementado la búsqueda de materias primas que cumplan las expectativas de los consumidores debido a las nuevas tendencias como la “cosmética natural” y la cosmética orgánica, esencialmente “fitocosméticos” ⁽⁷⁵⁾.

Un fitocosmético es definido como un cosmético que contiene activos naturales de origen vegetal, ya sea un extracto, aceite esencial o aceite, cuya acción define la actividad del producto ^(76, 77), por lo tanto, debe pasar por todas las etapas de investigación: propósito, investigación y desarrollo, incluyendo los ensayos de estabilidad que indican el comportamiento del

producto en diferentes condiciones ambientales y en cierto tiempo para asegurar la actividad durante toda su vida útil ^(78, 79).

Adicionalmente, la “fitocosmética” representa actualmente un sector en crecimiento, no solo por su avance en la investigación científica, sino también por las ventajas reales en la aplicación de productos vegetales en comparación a algunos productos sintéticos y por la sociedad que va exigiendo la adopción de tecnologías de productos económicos, ecológicos y seguros, y que a su vez, requieren un enorme esfuerzo por parte de los investigadores en la búsqueda de compuestos diferentes, naturales y competitivos ⁽⁸⁰⁾.

5.1. Extractos vegetales en productos cosméticos

El concepto de medicina alternativa o complementaria es cada vez más ampliamente aceptado y hay un creciente interés correspondiente a las plantas medicinales. Recientemente, se ha demostrado el papel de los medicamentos y productos a base de extractos vegetales en el control del envejecimiento ⁽⁸¹⁾.

Los fitocosméticos a base de plantas naturales son productos cuyos ingredientes tienen propiedades para rejuvenecer y proteger la piel de la contaminación del medio ambiente, los productos químicos, la fluctuación de la temperatura atmosférica, rayos UVA y UVB, arrugas, hiperpigmentación (exceso bronceado) e inflamaciones.

Tabla 3. Constituyentes herbarios usados como fotoprotectores.

| Natural Photoprotective Agents | Source/ Family | Components | Action/Uses |
|---------------------------------------|--|--|--|
| Tea | Green, black and oolong teas | Catechin, gallic acid, kaempferol, myricetin | Potent antioxidant and can scavenge ROS |
| Curcumin | Root of <i>Curcuma longa</i> Zingiberacea | Curcumin (diferuloylmethane) | Antioxidant, anti-inflammatory |
| Silymarin | Milk thistle (<i>Silybum marianum</i>) | Silybin, silibinin, silidianin, silychristin, isosilybin | Antioxidant and anticarcinogenic |
| Genistein | Soy, red clover, ginkgo biloba, Greek oregano and Greek sage | Genistein | Antioxidant and anticarcinogenic |
| Garlic compounds | <i>Allium sativum</i> | Garlic sulphur compounds | Antioxidant and photochemopreventive |
| Apigenin | Vascular plants | 5,7,4' – trihydroxyflavone | Anticarcinogenic |
| Resveratrol | Grapes, nuts, fruits | Trans-3'4'5'-trihydroxystilbene | Potent antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative. |
| Ginkgo biloba | <i>Ginkgoaceae</i> | Quercetin, epicatechin, rutin, apigenin | Antioxidant, anti-inflammatory and anticarcinogenic |
| Carotenoids | Green plants, carrots, tomatoes etc. | β - carotene, lycopenes | Photoprotective |
| α - tocopherol | Plant oils | α - tocopherol | Photochemoprotective |
| L-ascorbic acid | Most fruits and vegetables | L-ascorbic acid | Antioxidant |
| Caffeic and ferulic acids | Vegetables, olives, olive oil | Caffeic and ferulic acids | Photochemoprotective |

Fuente: Griffiths C, Svoboda A^(82, 83)

Los cosméticos fotoprotectores a base de plantas pueden incluir en su formulación uno o más agentes activos que actúen como filtros solares y antioxidantes, con la finalidad de lograr un buen efecto fotoprotector.

Actualmente diversos fabricantes han incorporado estos extractos vegetales, la Tabla 4 detalla algunos ejemplos ⁽⁸⁴⁾.

Tabla 4. Fitocosméticos fotoprotectores.

| Branded product | Herbs constituent | Manufacturer | Purpose |
|---|-----------------------------------|---|--|
| Tomato Sun Cream SPF 36 PA++ | Tomato | Skinfood Cosmetics, South Korea | Anti-wrinkle and sunscreen cream |
| Natural Sun SPF 25 | Green Tea, Aloe vera | Aubrey Organics, United States | Sunscreen cream |
| Sunscreen SPF +80 | Apple | Greenoo ®, Syria | Sunscreen cream |
| Power Light Intensive Fairness Moisturizer SPF 15 | Lemon, Long Dan | Garnier , England | Sun protecting fairness cream |
| SPF30 natural mineral sunscreen | Shea butter, Jojoba | John Masters TM Organics, New York | Sunscreen cream |
| Aroma sun tanning gel cream SPF 10 | Roman camomile, Geranium, Jasmine | Declore, Paris | Sunscreen gel |
| Saffron and bearberry fairness cream | Saffron, Bearberry | Jovees, India | Fair complexion cream |
| Body lotion | Sun flower oil | Cosmetics Bakery, Singapore | Body lotion |
| HydraLight moisture infusing lotion | Pomegranate, Oat, Cranberry | Paula's Choice, Canada | Antioxidant, antiaging, moisturizer lotion |
| Bio-pro carrot protective cream SPF 15 | Carrot oil | Biotique Botanical Herbal Extracts, India | Sunscreen cream |
| Even out face cream SPF 20 | Liquorice | Oriflame Cosmetics, Sweden | Sunscreen cream |
| Antiwrinkle Moisturizing lotion SPF 30 | Emblica | S B Cosmetics Inc, Florida | Anti-wrinkle lotion |
| Biovera SPF 75 | Aloe vera | Biotique Botanical Herbal Extracts, India | Protective body lotion |
| Save face & body sunscreen SPF 15 | Bitter orange | Arbonne Cosmetics. U.S.A. | Sunscreen lotion |

Fuente: Mishrar, et al ⁽⁸⁴⁾.

6. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son sustancias que pueden reducir o inhibir las reacciones de oxidación inducidas por radicales libres, actúan bloqueando la propagación de radicales en cadena, disipando la peroxidación lipídica de los ácidos grasos, lo que puede reducir o prevenir el envejecimiento cutáneo ^(85, 86).

6.1. Los radicales libres

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) formadas metabólicamente como intermediarios parcialmente reducidos, son especies moleculares activadas, dotadas de un electrón desapareado (Radical libre) en un nivel energético superior y por tanto dotadas de propiedades paramagnéticas que les confieren una alta e indiscriminada reactividad ⁽⁷⁷⁾.

6.2. Antioxidantes naturales y cosméticos

Los principales factores para la destrucción de la piel son moléculas oxigenadas que se llaman a menudo "radicales libres". Para estimular la piel, reparar y regenerar de forma natural, necesitamos diversos activos naturales. El "poder antioxidante" de los alimentos es una expresión de su capacidad para defender el organismo humano de la acción de los radicales libres y prevenir los trastornos degenerativos derivados del estrés oxidativo persistente ⁽⁸⁸⁾.

Los antioxidantes se dividen en dos categorías principalmente: sintéticos y naturales. En general los antioxidantes sintéticos son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquímica, mientras que

los antioxidantes naturales pueden ser: compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminos) o carotenoides así como el ácido ascórbico ⁽⁸⁹⁾.

Los antioxidantes sintéticos como el BHA y BHT (Butil-hidroxianisol y Butil-hidroxitolueno) han sido utilizados como antioxidantes desde principios del siglo pasado, sin embargo, se han impuesto medidas de precaución y se ha restringido su uso debido a su carcinogenicidad. Debido a esto, el interés por los antioxidantes naturales se ha incrementado considerablemente ya que la capacidad de actuar como antioxidante se ha demostrado en distintas literaturas ⁽⁹⁰⁾.

6.3. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son considerados estructuras que presentan en común la estructura de un fenol, anillo aromático de núcleo benceno, acoplado a por lo menos un sustituto hidroxilo, libre o perteneciente a ésteres, éteres o heterósidos. Este grupo incluye a los taninos, procianidinas oligoméricas, cumarinas, flavonoides y las antocianinas; candidatos a la prevención de estados patológicos como fotoenvejecimiento y cáncer cutáneo, esencialmente por la acción antioxidante común a todos ^(83, 91). En su estudio de investigación Basu Basu P, Maier C., reportaron 250,1 mg GAE/ g de extracto para la especie *Fragaria x ananassa* ⁽⁹²⁾.

6.3.1. Flavonoides

Los flavonoides están compuestos de dos anillos fenilos (A y B), ligados mediante un anillo pirano (C) ⁽⁹³⁾. Lo cual nos deja en un esqueleto de difenilpiranos: C6-C3-C6; y gracias a las variaciones del pirano se logran clasificar como se muestra en la figura 7. Entre sus propiedades tenemos, antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes. De esta última, principalmente, radica su función en el sistema nervioso, pues se ha visto relación de protección en enfermedades neurodegenerativas ⁽⁹⁴⁾. En su estudio de investigación Basu Basu P, Maier C., reportaron 22 mg QE/ g de extracto (mg de quercetina equivalente por gramo de extracto) para la especie *Fragaria x ananassa* ⁽⁹²⁾.

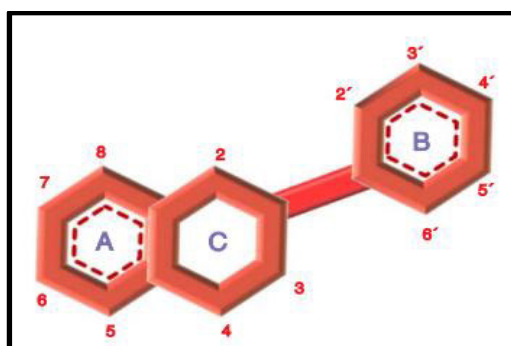


Figura 7. Estructura de flavonoide con numeración y especificación de cada heterociclo.

Fuente: Martínez-Flórez S, et al. ⁽⁹⁴⁾.

6.3.2. Antocianinas

Los aglicones (antocianinas), derivados del catión básico fenil-2-benzopireno generalmente denominado catión flavilo, son los responsables de la mayor parte de la coloración de flores, frutos, vegetales y plantas.

Entre las funciones de las antocianinas tenemos el poder antioxidante, antibacteriano, así como la inhibición de la peroxidación lipídica y agregación plaquetaria, lo que explica su capacidad en reducir la permeabilidad de los capilares y aumentar su resistencia ^(95, 96).

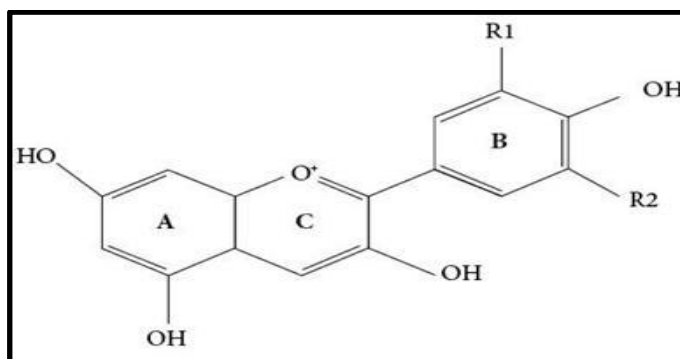


Figura 8. Fórmula estructural de una antocianina.

Fuente: De Pascual-Teresa S ⁽⁹⁷⁾

6.4. Métodos *in vitro* para evaluar la capacidad antioxidante

Los métodos de medición de la actividad antioxidante son diversos, muchos de ellos usan una acelerada oxidación que involucra a un iniciador para manipular una o más variables en el sistema de prueba. Tales iniciadores incluyen adición de un metal de transición como catalizador, exposición a la luz para promover oxidación fotosensitizada por oxígeno singlete y fuentes de radicales libres ^(98,99).

La evaluación de la actividad antioxidante a través de fuentes generadoras de radicales libres en el sistema de prueba, asume que la oxidación es inhibida en un alto porcentaje por la captura de éstos; por tanto se enfoca en monitorear la capacidad de aditivos y extractos para la captura de radicales o la inhibición de su formación. Este es el principio de los métodos más modernos de ensayo

tales como los ensayos de ABTS (ácido 2,2', azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico), DPPH (2,2-difenil-1- picrilhidrazilo), la reacción con el óxido nitroso (test NO), dicloridrato de N, N-Dimetil p- fenilendiamina (DMPD), generación de radicales peroxilo, superóxido e hidroxilo, y otros ^(98, 100).

6.4.1. Método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Un método muy usado para medir la capacidad antioxidante de una especie o sustancia, se basa en la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) la cual se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado, esta deslocalización también le otorga una coloración violeta caracterizada por una banda de absorción, en solución etanólica, centrada alrededor de 520 nm ⁽¹⁰¹⁾. Cuando una disolución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical (R) se produce la forma reducida DPPH-H ó DPPH-R con la consecuente pérdida del color y por lo tanto la pérdida de la absorbancia ⁽¹⁰²⁾.

7. FACTOR DE PROTECCIÓN SOLAR (FPS)

El sistema numérico para medir el factor de protección solar fue establecido por la FDA (Food and Drug Administration), el cual indica cuánto tiempo más un protector solar aumenta la capacidad de defensa natural de la piel antes de llegar a quemarse una persona, usando un producto de protección frente a un eritema o enrojecimiento de la piel previa a la quemadura. Por ejemplo, una persona de piel clara que normalmente empieza a quemarse después de diez minutos al sol, tardaría 15 veces ese tiempo con un FPS 15 (150 minutos) ⁽¹⁰³⁾.

7.1. Método *in vivo*

El método Simulador Solar para determinar SPF *in vivo* consiste en un dispositivo cuya función radica en simular un espectro de radiación continuo semejante al emitido por los rayos solares ⁽¹⁰⁴⁾.



Figura 9. Simulador Solar para test de FPS.

Fuente: Ponce Urbina, F. ⁽¹⁰⁴⁾

En donde el área de ensayo de la paliación de la protección solar es en la espalda de cada individuo, entre la línea de la cintura y los omóplatos (escápula) y laterales a la línea media, donde son determinadas las respuestas de la piel a la radiación UV. Las respuestas en la piel no protegida (donde no se aplica producto de prueba (muestra)) y la piel protegida (donde se aplica producto de prueba (protector solar) o estándar FPS) son determinados en las áreas de ensayo sin protección y con protección, por separado respectivamente.

Las áreas de ensayo deben estar situadas aleatoriamente y en estudio ciego, cada lugar de aplicación debe ser de un mínimo de 30 centímetros cuadrados y marcado con tinta indeleble. Cada sub-área de ensayo debe ser de al menos

0,5 centímetros cuadrados (cm²) en la zona y deben estar separadas entre sí por al menos 0,8 cm y debe ser marcado con tinta indeleble.

Finalmente, se aplica 2 miligramos por cm² (mg/cm²) del protector solar de prueba (muestra) y el estándar SPF en sus respectivos lugares de aplicación, se espera por lo menos 15 minutos después de la aplicación del protector solar antes de exponer las áreas de ensayo a la radiación UV. La dosis administrada al área de exposición a radiación UV debe estar dentro del 10 % de la dosis esperada. La dosis mínima de eritematosa (MED) es la dosis mínima de radiación UV que produce un perceptible enrojecimiento en la piel (eritema) con bordes claramente definidos a las 16 - 24 horas después de la exposición a la radiación UV. La MED para piel no protegida (MED u) es determinada en un lugar de aplicación donde no se haya aplicado protección solar. El MED de la piel protegida (MED p) se determina en un lugar de aplicación donde se haya aplicado protector solar. Existe una MED p determinada para el estándar SPF (ssMED p) y una MED p determinada para el producto de prueba solar (tpMED p); Para cada sujeto de estudio se administra una serie de dosis de radiación UV, expresadas en J/m²-eff, en las sub-áreas de ensayo de acuerdo al área de aplicación para piel no protegida, usando un calibrado y preciso simulador solar. El valor de FPS se calcula para cada sujeto de estudio (FPS i) de la siguiente manera:

$$SPFi = \frac{MEDp}{MEDu}$$

Calcular la media

$$SPF (\overline{SPF})$$

y la desviación estándar (s) del valor de SPF i . Calcular el error estándar (SE), que es igual a s / \sqrt{n} (donde n es igual al número de sujetos que proporcionan resultados válidos). Obtener el valor t de la tabla de distribución T de Student correspondiente al punto superior del 5 % con $n-1$ grados de libertad ⁽¹⁰⁵⁾.

El estándar SPF corresponde a una formulación que contenga 7% de Padimato O y 3% oxibenzona ⁽⁷⁰⁾.

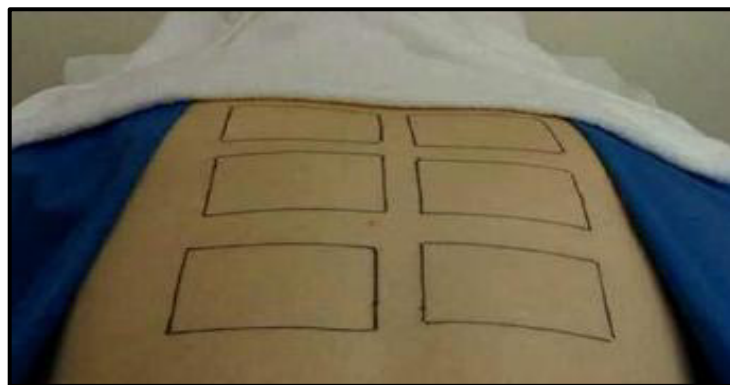


Figura 10. Área de ensayo en sujeto sometido a ensayo para la determinación de FPS *in vivo*.

Fuente: Ponce Urbina, F. ⁽¹⁰⁴⁾

7.2. Método *in vitro*.

Se desarrollan metodologías *in vitro* que se basan en las propiedades de absorción o de reflexión del filtro y se pueden utilizar para evaluar el FPS durante el desarrollo de una formulación y para el control de calidad de rutina ⁽¹⁰⁶⁾.

El método desarrollado por Mansur et al. , demostró ser eficaz, rápido y además de presentar una buena correlación con los resultados *in vivo* principal responsable de los foto-daños cutáneos ^(95, 96). Las muestras son diluidas con

etanol 96° a la concentración final de 0,2 µg / mL. La absorbancia de las soluciones es determinada en el rango de 290-320 nm a intervalos de 5 nm por triplicado para cada longitud de onda ^(107, 108).

Además también se tiene dentro de este grupo de métodos al Test de Amplio espectro Según Nueva Normativa FDA para Protectores Solares el cual es un test que evalúa la relación de Transmitancia/ Absorbancia de la radiación UV en las regiones de UVB y UVA del espectro que posee un protector solar. Se emplea placas polimetilmetacrilato grado-óptico (PMMA) adecuados para la medición de transmitancia UV. Asimismo, debe tener un área de aplicación rectangular de al menos 16 centímetros cuadrados (con ningún lado más corto de 4 cm). El producto se aplica a 0,75 mg por centímetro cuadrado en la placa de PMMA, se esparce ligeramente durante aproximadamente 30 segundos y se deja reposar durante 15 minutos en la oscuridad antes de la pre- irradiación. Después de la pre- irradiación, los valores de transmitancia deben ser determinados para cada longitud de onda (λ) en el espectro UV completo (290-400 nm). El valor del FPS es determinado a partir de la absorbancia y transmitancia difusa, con el empleo de una ecuación matemática ^(105, 109).

7.3. Investigaciones previas relacionadas al presente estudio

La búsqueda de nuevos productos naturales como protectores solares ha sido tema de varios estudios. Por ejemplo, Soares Dos Reis et al. analizaron la actividad fotoprotectora del extracto hidroalcohólico de propóleo verde del Vale do Aço de Minas Gerais, Brasil donde en las formulaciones que contenían 40% de extracto de propóleo se encontraron valores de FPS sobre 10 lo cual se atribuye a los flavonoides presentes en el propóleo ⁽¹¹⁰⁾.

El fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* HBK) brinda una excelente alternativa para ser utilizado como sinergista de los fotoprotectores en formulaciones cosméticas por poseer en su composición compuestos con actividad biológica, dentro de los que resaltan sustancias antioxidantes, como compuestos fenólicos y vitamina C ⁽¹¹¹⁾.

M. Inocente et al, evaluó la actividad fotoprotectora de las formas farmacéuticas de loción y gel que contenía extracto estabilizado de camu camu y filtro solar, presentando valores de Factores de Protección Solar (FPS) de $10,897 \pm 0,298$ para el gel, y $13,401 \pm 0,319$ para la loción, concluyéndose que la loción y el gel poseen propiedades antioxidantes y factor de protección solar acorde a las exigencias normativas ⁽¹¹²⁾.

Khazaeli y Mehrabani, determinaron el valor de FPS de extractos de 16 plantas medicinales e informaron que los extractos de hojas de *Dracocephalum moldavica* L. y las flores de *Viola tricolor* L. presentan valores altos de FPS 24,79 y 25,69 respectivamente. Concluyendo así que estas plantas tienen altas cantidades de componentes fenólicos y flavonoides los cuales podrían ser los responsables de los valores altos de FPS ⁽¹¹³⁾.

Chanchal and Swarnlata evaluaron la actividad fotoprotectora del extracto alcohólico de *Camellia sinensis* y obtuvieron un valor de FPS de $18,10 \pm 0,05$; confirmando su actividad. La actividad antioxidante y el factor de protección solar del extracto de *Camellia sinensis* podrían ser utilizados en la preparación de formulaciones cosméticas fotoprotectoras que impedirían efectos nocivos en la piel causados por las radiaciones ultravioletas ⁽¹¹⁴⁾.

Gasparrini M. et al., en su estudio evaluó la potencial capacidad fotoprotectora de diferentes formulaciones a base de fresas, enriquecidas con nanopartículas

de Coenzima Q10 y con factor de protección solar 10 (SPF10) en fibroblastos dérmicos humanos (HuDe) expuestos a radiación UVA ⁽¹¹⁵⁾.

7.4. Protección Solar: Normativa

Los protectores solares son entendidos y regulados por la *Food and Drug Administration* (FDA) como medicamentos OTC (de venta libre) y su regulación se ampara en el *Federal Food, drug and cosmetic Act*.

En diversos países se ha venido desarrollando metodologías propias para la determinación de FPS tales como: Australia (Estándar Association of Australia - SAA), Japón (Japan Cosmetic Industry Association – JCIA), Sudáfrica (South African Bureau of Estandar - SABS) y la Comunidad Europea (European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association - COLIPA) ⁽¹¹⁶⁾.

Los países integrantes de la Comunidad Europea solicita sustentos científicos para validar la efectividad del producto a través de su agencia COLIPA, cuentan con la “Commission recommendation: on the efficacy of sunscreen products and the claims made relating there to”, dicho documento es el equivalente a la Nueva Normativa para protectores solares desarrollada por la FDA.

Se establece una "Nueva Clasificación de FPS COLIPA" según el tipo FPS:

| | | | | |
|------|----------|-------|------------|------|
| Bajo | (2-4-6), | Medio | (8-10-12), | Alto |
|------|----------|-------|------------|------|

(15 - 20 - 25), Muy Alto (30 - 40 - 50), Ultra (50+). Para determinar el FPS a anunciarse, la media hallada se redondea hacia abajo hasta el número más cercano de la clasificación FPS propuesta. El límite mínimo para que un producto sea anunciado como protector solar es FPS 2. El límite máximo a anunciarse es 50+. Para ello, el producto debe tener un FPS de 60 ó más. Sólo

podrán anunciarse los FPS determinados en la nueva Clasificación FPS. Se intenta uniformar la lectura para el consumidor, adjetivando además el grado de protección (Bajo, Medio, Alto, Muy alto. Ultra). Se intenta evitar así la confusión que surge de números diferentes para cada producto, hecho que perseguía estrategias de marketing diferencial de cada producto más que un afán de brindar información al consumidor ⁽¹¹⁷⁾.

El progreso de la Regulación de Protectores solares en el *Federal Food, drug and cosmetic Act* data de 1978, donde se publicó una propuesta de reglamentación que incluía recomendaciones de un panel de revisión en seguridad y eficacia para el uso de protectores solares, asimismo dicho panel recomendó el uso de 21 ingredientes activos que fueron determinados como “GRASE” (En español: Generalmente reconocidos como seguros y efectivos), se recomendó que todos los protectores solares tengan valores de Factor de Protección Solar (FPS) mayores a 2, adicionalmente un etiquetado con valor máximo de FPS de 15 ⁽¹¹⁸⁾.

En el año 1999, fue publicada la Reglamentación Final que resumió la mayor parte de las propuestas históricas, dicho documento fue establecido en la parte 352 del título 21 del Code Federal Register (CFR) del gobierno de los Estados Unidos y entró en vigencia el 21 de mayo de 2011. En dicha monografía se incluye condiciones para determinar como “GRASE” a los siguientes ingredientes activos descritos en la tabla 5 ⁽¹⁰³⁾.

Tabla 5. Ingredientes Activos para protectores solares determinados como GRASE Ingredientes Activos.

| Ingredientes Activos | Porcentaje |
|--------------------------------|-------------------|
| Acido p – aminobenzóico (PABA) | 15 % |
| Avobenzona | 3 % |
| Cinoxato | 3 % |
| Dioxibenzona | 3 % |
| Ensulizole | 4 % |
| Homosalato | 15 % |
| Meradimato | 5 % |
| Octinoxato | 7,5 % |
| Octisalato | 5 % |
| Octocrileno | 10 % |
| Oxybenzona | 6 % |
| Padimato O | 8 % |
| Sulisobenzona | 10 % |
| Dioxido de Titanio | 25 % |
| Salicilato de Trolamina | 12 % |
| Óxido de Zinc | 24 % |

Fuente: FDA, Department of Health and Human Services ⁽¹⁰³⁾

Finalmente en el 2011, se publicó la Nueva Regulación que establece requerimientos de etiquetado y análisis de productos protectores solares comercializados donde: ⁽¹⁰⁵⁾

- Establece un etiquetado determinado respecto al valor de FPS y protección de Amplio Espectro, así como especifica métodos de ensayo necesarios para determinarlos.
- Establece un etiquetado y método de ensayo para la determinación de resistencia al agua.

De manera complementaria también se ha realizado la propuesta de reglamentación para limitar en el etiquetado el valor máximo de FPS a 50.

La fecha de implementación de este reglamento fue ampliada al 31 de diciembre del 2012 ya que aún no se había establecido un ensayo para la determinación de fotoprotección de amplio espectro, así como requerimientos para el etiquetado para este tipo de productos ⁽¹¹⁹⁾.

En el caso de los países CAN (al cual se acoge Perú en cuanto a normatividad de cosméticos) todavía se está coordinando la elaboración de una normativa que estipule la comercialización de protectores solares en los países miembros, a nivel regional sólo MERCOSUR ya tiene un Reglamento Técnico (Reglamento Técnico Mercosur sobre Protectores solares en Cosméticos) liberado en agosto del 2011, el cual regula la comercialización de estos productos en los países que conforman este grupo. En el caso de la metodología para la determinación de FPS acepta la desarrollada por la Comunidad Europea (COLIPA) o la desarrollada por la FDA ⁽¹²⁰⁾.

Según la normativa de la Comunidad Andina. Decisión 516, artículo 21; se puede utilizar sustancias nuevas de origen subregional que no se encuentren consideradas en los listados internacionales reconocidos, siempre y cuando un país miembro apruebe su comercialización e informe de este hecho a los demás países miembros. De esta manera se impulsa un proceso de investigación y desarrollo basado en el uso sostenible de la inmensa diversidad biológica de los países andinos ⁽⁷⁾.

3. PARTE EXPERIMENTAL

1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

1.1. MATERIAL BOTÁNICO

Fruto de fresa (*Fragaria vesca* L.)

1.2. MATERIALES

Frascos ámbar de 2 L

Embudo de Büchner

Matraz Kitasato de 1 L (BOECO)

Tubos de ensayo

Frascos Viales

Pipetas de 5, 10 mL (BOECO)

Fiolas de 10, 25, 50, 100 mL (BOECO)

Micropipetas de 0,5; 1 mL (EPPENDORF RESEARCH PLUS)

Tips para micropipeta de 200 µL y 1000 µL

Beakers de 50, 100, 150, 200 mL (BOECO)

Baguetas

Tubos Falcon de precipitación 10 mL

Papel filtro

Placas de cromatofolio (MERCK)

Cubas de revelado

Cromatofolios de silicagel gf 254

Aspersor para cromatografía

Termómetro Digital

1.3. EQUIPOS

Estufa de aire seco HV OVENS

Licuadaora OSTER BEST02-E01

Bomba de vacío MRC VP-34

Balanza electrónica Mettler Toledo PB3002-S/FACT

Balanza analítica Acculab

Cocinilla IKA C-MAG H57

Homogenizador ULTRA TURRAX IKA T-25 Digital

Viscosímetro BROOKFIELD DV-III ULTRA RHEOMETER

pHmetro digital Mettler Toledo Inlab 730

Espectrofotómetro UV Visible CARY Genesys 6.

1.4. REACTIVOS

Agua destilada

Etanol absoluto (Merck)

N-butanol (Merck)

Ácido acético (Merck)

Rvo. Folin Ciocalteu (Merck)

Carbonato de Sodio (Merck)

Ácido gálico (Calbiochem)

Vitamina C (Calbiochem)

Metanol (Merck)

Reactivo DPPH. (1,1-difenil-2picril hidracilo)

2. METODOLOGÍA

2.1. Recolección y selección del material botánico

El fruto de fresa (*Fragaria vesca* L.) fue recolectado en el distrito de Huaral provincia de Lima, departamento de Lima en el mes de Setiembre del 2014. El estudio taxonómico fue realizado en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988). Se seleccionaron los frutos en condiciones óptimas (sin signos de putrefacción, estado de madurez).

2.2. Obtención del extracto hidroalcohólico

Los frutos de fresa fueron lavados con abundante agua potable, luego se lavaron con agua destilada y las hojas verdes fueron separadas y descartadas. Los frutos se cortaron en trozos y se vaciaron a una licuadora hasta homogenización.

Para la preparación del extracto hidroalcohólico se pesaron 2,100 Kg de fruto fresco y se pusieron a macerar en etanol acuoso al 80% P/V en un frasco ámbar a temperatura ambiente durante 1 semana agitándolo dos veces al día, luego se filtró con ayuda de la Bomba de Vacío y se evaporó el disolvente en estufa a 40°C. El producto de la evaporación se trasvasó en viales el cual se pesó y se guardó en refrigeración hasta su uso para los siguientes análisis.

2.3. Estudio farmacognóstico

2.3.1. Análisis organoléptico

En el análisis organoléptico del extracto de fresa se consideró lo siguiente: aspecto, color, olor y sabor.

2.3.2. Marcha fitoquímica

Para el conocimiento de los constituyentes químicos de los extractos se empleó la marcha fitoquímica descrita por Olga Look ⁽¹²¹⁾.

2.3.3. Análisis Cromatográfico

Se emplearon cromatofolios de silicagel GF254 Merck, en los cuales se aplicó el extracto y los estándares de comparación empleando capilares, luego fueron colocados en cubas cromatográficas saturadas con los sistemas de solventes que previamente se ensayaron, tales sistemas fueron:

n- Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)

Se utilizó ácido gálico como estándar de comparación en la cromatografía de la sustancia polar. Los cromatofolios obtenidos en el análisis fueron revelados con reactivo de tricloruro férrico y tricloruro de aluminio (compuestos fenólicos).

2.4. Determinación de fenoles totales

Los fenoles totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin - Ciocalteu usando el ácido gálico como materia de referencia ⁽¹²²⁾.

2.4.1. Fundamento

El método de Folin – Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico- fosfotúngstico ⁽¹²³⁾. La transferencia de electrones a OH básico reduce los complejos fosfomolibdico- fosfotúngstico en

óxidos, cromógenos de color azul intenso cuya absorbancia es medida a 760 nm, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula ⁽¹²⁴⁾.

2.4.2. Procedimiento

Se preparó una solución patrón de referencia: solución acuosa estándar de ácido gálico 0,1 g/L (solución madre) y una solución de carbonato de sodio 75 g/L. Por otro lado se preparó una solución 1 N del reactivo de Folin Ciocalteu, por medio de una dilución 1:2 del reactivo comercial (2 N) en agua destilada. La solución reactiva se protegió de la luz y se colocó en refrigeración hasta su uso.

A partir de la solución patrón de ácido gálico, en tubos protegidos de la luz se hicieron las diluciones necesarias con agua destilada para obtener concentraciones de 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 250 mg/L, 500 mg/L, 750 mg/L, 1000 mg/L para la preparación de la curva de calibración. En una batería de 3 tubos se colocaron 200 μ L del extracto hidroalcohólico y de la solución estándar, se le adicionó a cada tubo 1 mL del reactivo Folin Ciocalteu (1:10), se homogenizó y se dejó en reposo durante 4 minutos, posteriormente se adicionaron 800 μ L de la disolución de carbonato de sodio 75 g/L, se mezcló y se dejó reposar por 2 h a temperatura ambiente y en oscuridad. También se preparó un blanco con todos los componentes excepto la solución de ácido gálico. Las absorbancias de las muestras fueron leídas a 760 nm en un espectrofotómetro de Ultravioleta Visible (CARY Genesys 6).

Todas las muestras fueron analizadas por triplicado, y los cálculos de fenoles totales fueron expresados como equivalentes en gramos de ácido gálico

(GAE)/g por gramo de muestra, basándose en la curva de calibración del material de referencia de ácido gálico.

2.5. Determinación de actividad antioxidante

La actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico se determinó por el método 2,2- difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) planteada por Brand-Williams et al.

(125).

2.5.1. Fundamento

El fundamento del método consiste en la reducción del radical DPPH, que posee un electrón desapareado, en presencia de una sustancia antioxidante. Evidenciándose ésta reacción al decolorar el reactivo de azul-violeta hacia amarillo pálido, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm.

2.5.2. Procedimiento

Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radical libre DPPH a una concentración de 20 mg/L.

Se realizó utilizando el radical DPPH (1,1-difenil-2picril hidracilo) a una concentración de 20 mg/mL. El extracto fue evaluado a diferentes concentraciones (5-200 µg/ml), preparado a partir del residuo de la extracción hidroalcohólica de la especie estudiada en metanol la cual se almacenó a 0°C en recipiente ámbar recubierto con papel aluminio para mayor protección contra luz; siendo comparado frente al ácido ascórbico (vitamina C), posteriormente se leyó en el espectrofotómetro UV a 517 nm. La concentración de DPPH en el medio de reacción se calcula a partir de la curva de calibración

obtenida por regresión lineal. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se promediaron las lecturas.

Valores muy bajos de absorbancia de la mezcla reaccionante es indicativo de una alta capacidad secuestrante de radicales libre (CSRL), expresada numéricamente mediante la ecuación:

$$\text{Capacidad Antioxidante} = \left[1 - \frac{(A2 - A3)}{A1} \right] \times 100\% \text{ Captación de Radical Libre}$$

Cálculo de la capacidad antioxidante:

A1 = Absorbancia del patrón de referencia

A2 = Absorbancia de la muestra

A3 = Absorbancia del blanco de muestra

2.6. Cuantificación de antocianinas por pH diferencial

La cuantificación de antocianinas se realizó por el método de pH diferencial (126).

2.6.1. Fundamento

Este es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH 1 coloreadas y pH 4,5 incoloras).

2.6.2. Procedimiento

Se prepararon diluciones del extracto metanólico con solución buffer pH 1,0 de cloruro de potasio y con solución buffer pH 4,5 de acetato de sodio. Se midió la absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de máxima (λ máx = 515

nm) y a 700 nm. De la ecuación de Lambert-Beer se obtiene $C = A / \epsilon L$, donde: C es la concentración molar, A es la absorbancia, ϵ corresponde a la absorbancia molar o coeficiente de extinción molar (constante física para especies moleculares en un solvente a una determinada longitud de onda, se pueden utilizar los valores de absorbancia molar para pigmentos purificados tomados de la literatura), L es la longitud de recorrido en cm. La concentración en mg/L puede ser determinada multiplicando por el peso molecular (PM) del pigmento y por el factor de dilución (FD). Para el cálculo del contenido de antocianinas se utiliza el peso molecular y la absorbancia molar del pigmento antociano presente en mayor proporción, en este caso es la cianidina (PM = 449,2 y $\epsilon = 26900$).

Por lo anterior la concentración de antocianinas monoméricas se obtuvo con la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/L)} = (A) (PM) (FD) (1000) / \epsilon (1)$$

La absorbancia (A) se calculó de la forma siguiente:

$$A = (A_{\lambda\text{max}} - A_{700}) \text{ a pH} = 1,0 - (A_{\lambda\text{max}} - A_{700}) \text{ a pH} = 4,5$$

La concentración de antocianinas totales se obtuvo de la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas totales (mg/L)} = A' (PM) (FD) (1000) / \epsilon (1)$$

La absorbancia (A') se calculó como se indica a continuación:

$$A' = (A_{\lambda\text{max}} - A_{700}) \text{ pH} = 1,0$$

2.7. Desarrollo de las formulaciones fotoprotectoras

2.7.1. Ensayos previos

Los disolventes (emulsionantes) utilizados en las fórmulas para hacer la mezcla de filtros orgánicos con el vehículo posiblemente interfieren en la curva de absorción característica de activos, así como en las medidas fotoprotectoras de la fórmula. Es un hecho conocido que incluso el orden, la velocidad, la técnica y la temperatura de la mezcla de los componentes de la fórmula generan productos finales con diferentes propiedades y pueden interferir en la eficacia del fotoprotector, que debería alertar a los dermatólogos en cuanto a la fiabilidad de las fórmulas magistrales de protección solar.

Los protectores solares tópicos pueden ser utilizados en diferentes fórmulas cosméticas:

Las emulsiones de aceite en agua (O / W) presentan baja untuosidad, producir un efecto refrescante, secar rápidamente y se puede lavar fácilmente en el agua. Tales ventajas se deben al hecho de que la fase continua de la emulsión es acuosa, y la fase dispersiva, aceitosa.

Para la elección de la forma cosmética tópica se tomaron algunos criterios como factibilidad de fabricación, compatibilidad con el extracto, aspecto, costo, estabilidad y seguridad. Asimismo, la selección de excipientes se realizó evaluando la solubilidad, compatibilidad, aspecto, costo, estabilidad y seguridad. En base a la tabla 6, se toma en cuenta ello y se eligió la forma cosmética tópica de crema o/w para el desarrollo de las formulaciones.

Tabla 6. Principales características de los fotoprotectores tópicos de acuerdo al vehículo usado.

| PRESENTACIÓN | SENSACIÓN EN LA PIEL | RESISTENCIA AL AGUA | NECESIDAD DE REAPLICACIÓN |
|-------------------------|----------------------|---------------------|---------------------------|
| Crema/Loción (emulsión) | agradable | si | Menor frecuencia |
| Gel aceitoso | aceitoso | si | Menor frecuencia |
| Gel acuoso | agradable | no | Frecuente |
| Gel hidroalcohólico | agradable | si | Menor frecuencia |
| Gel cremoso | agradable | si | Menor frecuencia |
| Sticks | grasoso | si | Menor frecuencia |
| Spray/aerosol | aceitoso | si | Menor frecuencia |

Fuente: Schalka S, et al ⁽⁴⁰⁾.

2.7.2. Ensayo de formulaciones

Se realizaron ensayos de formulaciones conteniendo al 1, 2 y 5 % de los extractos en el producto final. Además se realizaron pruebas comparativas, con la finalidad de determinar posibles incompatibilidades entre el extracto y los excipientes.

2.7.3. Elaboración de formulaciones

Se realizaron 4 formulaciones tal como muestra la tabla 7.

Tabla 7. Formulaciones desarrolladas en una crema.

| FORMA COSMÉTICA | FORMULACIONES | | | |
|-----------------|---------------------------------|---|---------------------|----------------------|
| | C1 | C2 | C3 | C4 |
| CREMA | Crema base + Filtros sintéticos | Crema base + filtros sintéticos + EHF5% | Crema base + EHF 5% | Crema base (placebo) |

Donde:

EHF: Extracto hidroalcohólico de fresa.

2.8. Análisis fisicoquímico y sensorial del producto terminado

Se realizó el análisis físico y sensorial de las formulaciones tomando en cuenta el aspecto, color, olor, pH y consistencia.

2.9. Determinación de pH

Se prepararon soluciones acuosas de cada formulación al 10% p/v. Las muestras fueron calentadas a 70 °C por 5 minutos, enfriadas a temperaturas ambientes y filtradas en papel filtro. Se determinó el pH del filtrado utilizando un pH metro digital Mettler Toledo Inlab 730 ^(77, 127).

2.10. Determinación *in vitro* del Factor de Protección Solar (FPS) de las formulaciones por el Método de Mansur et. al. ⁽¹⁰⁷⁾ y Sayre et. al. ⁽¹⁰⁹⁾

Se sometieron las formulaciones preparadas con el extracto de fresa a análisis en el espectrofotómetro en la región de radiación UVB (290-320 nm) en el cual se diluyeron en etanol 96° a la concentración final de 0,2 mg/mL. La absorbancia de las soluciones se determinó en el rango de 290-320 nm a intervalos de 5 nm. El etanol de 96° se utiliza como vehículo. Los ensayos se realizaron por triplicado para cada longitud de onda.

La fórmula para determinación es la siguiente:

$$\text{FPS espectrofotométrico} = \text{FC} \cdot \sum \text{EE}(\lambda) \cdot \text{I}(\lambda) \cdot \text{Abs}(\lambda)$$

Donde:

FC: Factor de corrección (igual a 10)

EE (λ): Efecto eritemogénico de la radiación de la longitud de onda λ (Tabla 8)

I (λ): La intensidad de sol en la longitud de onda λ (Tabla 8)

Abs (λ): Absorbancia de la solución en la longitud de onda.

Los valores del efecto eritemogénico (EE) versus la intensidad de la radiación (I) pueden verificarse en la Tabla 8 ⁽¹⁰⁹⁾.

Tabla 8. Relación entre el efecto eritemogénico (EE) y la intensidad de radiación (I) de acuerdo a la longitud de onda (λ).

| λ (nm) | EE x I |
|----------------|--------|
| 290 | 0,050 |
| 295 | 0,0817 |
| 300 | 0,2874 |
| 305 | 0,3278 |
| 310 | 0,1864 |
| 315 | 0,0839 |
| 320 | 0,0180 |

Fuente: Sayre et. al. ⁽¹⁰⁹⁾.

2.11. Análisis espectral de las formulaciones

Se realizaron perfiles de absorción en el rango ultravioleta (290-320 nm) de las muestras de las formulaciones del análisis del FPS.

4. RESULTADOS

1. Del Estudio Farmacognóstico

1.1. Ensayo organoléptico

Tabla 9. Características organolépticas del extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L. (fresa)

| Característica | Extracto hidroalcohólico |
|----------------|--------------------------|
| Aspecto | Líquido viscoso |
| Color | Rojo oscuro |
| Olor | Característico |
| Sabor | Ácido |

Tabla 10. Rendimiento del extracto obtenido.

| | |
|-------------------------------|------------|
| Cantidad fruto de fresa | 2,100kg |
| Cantidad de extracto obtenido | 0,231kg |
| Rendimiento | 11% |

1.2. De la marcha fitoquímica

Tabla 11. Resultados de la Marcha Fitoquímica

| METABOLITOS | REACTIVO | RESULTADO | CALIFICACIÓN |
|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|--------------|
| <i>Carbohidratos (Azúcares)</i> | R. Molish A | Anillo color violeta | +++ |
| | R. Trommer A | Color rojo | +++ |
| | R. Benedict | Precipitado rojo ladrillo | + |
| | R. Fehling A y B (Reductores) | Precipitado color anaranjado ladrillo | +++ |
| <i>Compuestos fenólicos</i> | R. FeCl ₃ | Coloración verde o azul | +++ |
| <i>Taninos</i> | R. Gelatina | Precipitado blanco | +++ |

| | | | |
|--|------------------------|---------------------------------------|-----|
| <i>Aminoác. libres y grupos amino</i> | R. Ninhidrina | Color violáceo | + |
| <i>Flavonoides</i> | R. Shinoda | Coloración ligeramente rojiza | ++ |
| <i>Triterpenoides y esteroides</i> | R. Liebermann-Burchard | Anillo pardo/coloración verde azulada | + |
| <i>Naftoquinonas, antronas y antranonas</i> | R. Borntrager | Color Rojo | + |
| <i>Alcaloides</i> | R. Dragendorff | Precipitado naranja | - |
| | R. Mayer | Precipitado blanco | - |
| <i>Antocianinas y flavonoides catéquicos</i> | R. Rosenheim | Color rojo oscuro | +++ |
| Saponinas | Índice de espuma | 1,6 cm | + |

Leyenda:

(+++): ABUNDANTE (++) : MODERADO (+): LEVE (-): AUSENTE

1.3. Del Análisis Cromatográfico

Se efectuó el análisis cromatográfico al extracto hidroalcohólico, se observó reacción positiva frente al revelador tricloruro de hierro para compuestos fenólicos y tricloruro de aluminio para flavonoides.

Tabla 12. Identificación cromatográfica de compuesto fenólicos y flavonoides.

| | | |
|-----------------------------|--|-----------------------------------|
| Método | Cromatografía en capa fina | |
| Sistema de solventes | n-butanol: ácido acético: agua (4:1:5) | |
| Muestra | Extracto hidroalcohólico | |
| Revelador | FeCl ₃ | AlCl ₃ |
| Rf | Rf (Rev. FeCl ₃) | Rf (Rev. AlCl ₃) |
| | ST. Ácido Tánico: 0,85 MP = 0,83 | ST. Quercetina: 0,97 MP = 0,53 |
| | ST. Ácido Gálico: 0,88 MP = 0,87 | |

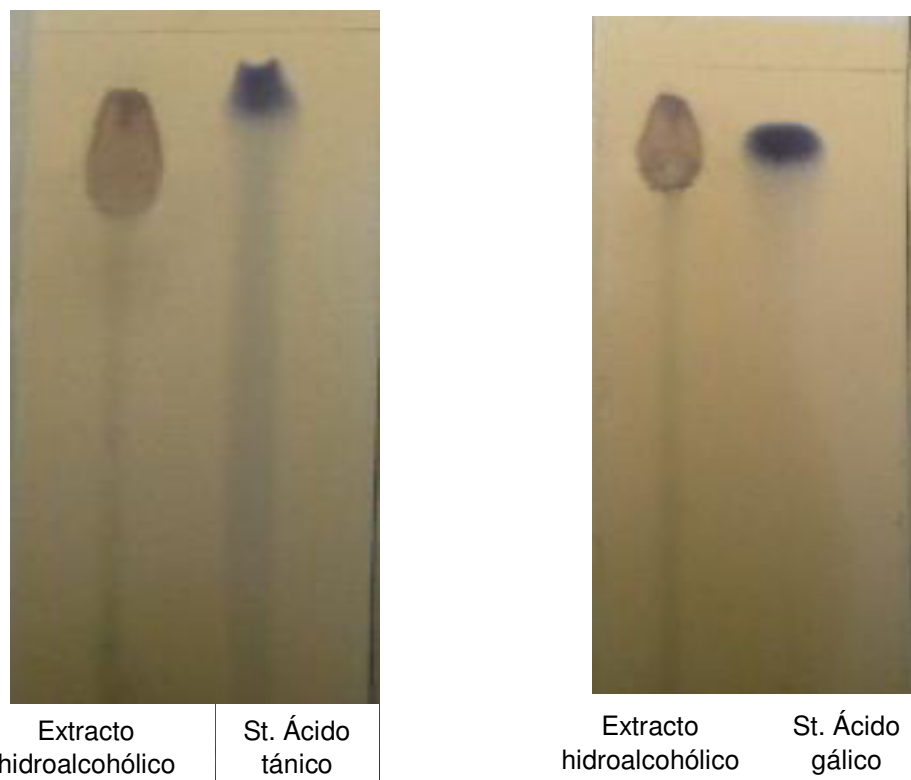


Figura 11. Identificación cromatográfica de compuestos fenólicos (Revelador FeCl_3)



Figura 12. Identificación cromatográfica de flavonoides (Revelador AlCl_3)

1.4. De la Determinación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales según la metodología de Folin Ciocalteu muestra valores promedio expresados como Equivalente en mg de Ácido Gálico (GAE) por g de pulpa de fruto de fresa y como mg de GAE por g de extracto. Los resultados obtenidos fueron 15,15 mg GAE/ g de pulpa de fruto de Fresa y 137,73 mg GAE/ g de extracto.

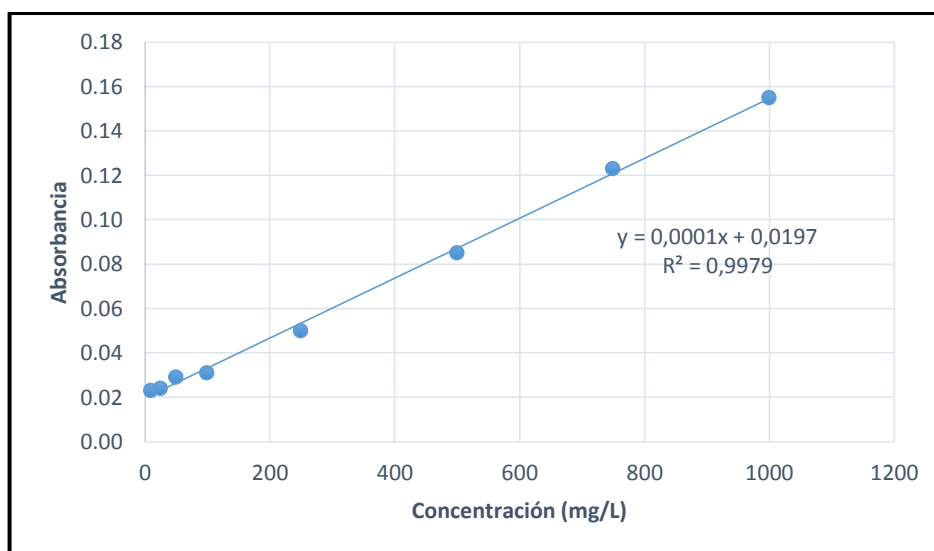


Figura 13. Curva de calibración del estándar ácido gálico

Tabla 13. Resultados de la determinación de compuestos fenólicos

| <i>Fragaria vesca L.</i> | Extracto hidroalcohólico |
|--------------------------|--------------------------|
| Absorbancias | 0,122 |
| | 0,124 |
| | 0,123 |
| Promedio absorbancias | 0,123 |
| GAE (mg/ L) | 103,300 |
| mg GAE/ g Extracto | 137,730 |
| mg GAE/ g pulpa | 15,150 |

1.5. Actividad Antioxidante.

La capacidad antioxidante fue expresada en términos de % de Captación de radicales libres, obteniendo un valor de 81,22% para el extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca L.*

Tabla 14. Resultados de la determinación de la actividad antioxidante

| CONC. DE LA M.P. | | ABSORBANCIAS a $\lambda=517$ nm | | % CAP. ANTIOX | PROM % CAP. ANTIOX. | |
|------------------|---|---------------------------------|--------|---------------|---------------------|---|
| | | M.P. | BLANCO | | | |
| 1 mg/mL | 1 | 0,264 | 0,031 | 81,2248 | 81,22 | % |
| | 2 | 0,264 | 0,031 | 81,2248 | | |
| | 3 | 0,264 | 0,031 | 81,2248 | | |
| 0,8 mg/mL | 1 | 0,345 | 0,032 | 74,7784 | 74,86 | % |
| | 2 | 0,344 | 0,033 | 74,9396 | | |
| | 3 | 0,345 | 0,033 | 74,8590 | | |
| 0,5 mg/mL | 1 | 0,425 | 0,036 | 68,6543 | 68,63 | % |
| | 2 | 0,425 | 0,036 | 68,6543 | | |
| | 3 | 0,425 | 0,035 | 68,5737 | | |

| | |
|-------------------------|-------|
| Abs DPPH (patrón) | 1,241 |
| Vit C (control) 1 mg/mL | 87 % |

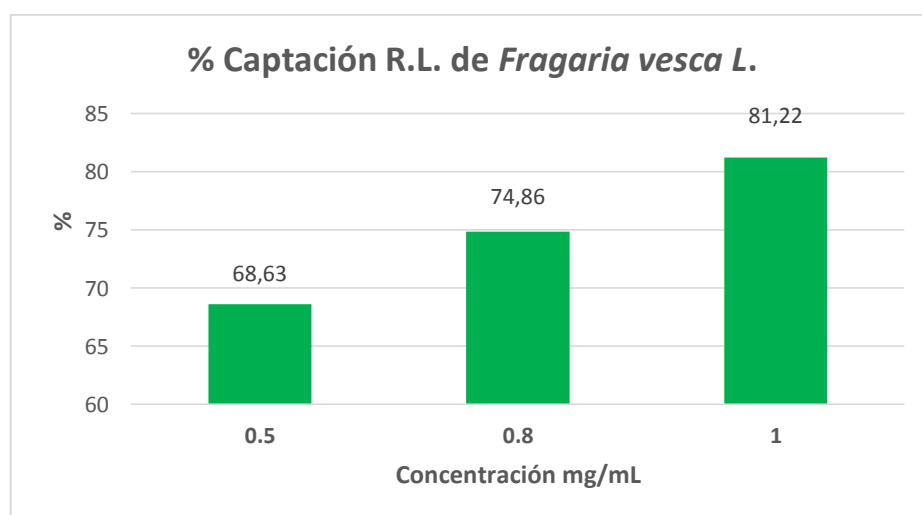


Figura 14. Captación de radicales libres del extracto de *Fragaria vesca L.*

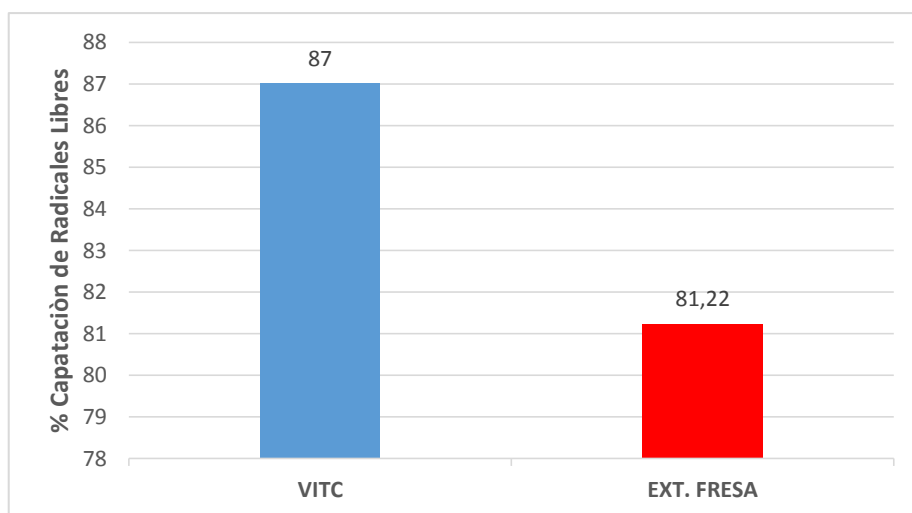


Figura 15. Capacidad antioxidante: % De Captación de radical libre DPPH

Tabla 15. Capacidad Secuestrante de Radicales Libres (CSRL)

| MUESTRA | EXTRACTO | % CAPTACIÓN DE RADICAL LIBRE (C.R) |
|-----------------------------------|-----------------|------------------------------------|
| Vitamina C (Ácido ascórbico) | --- | * 87,00 % |
| Fresa (<i>Fragaria vesca</i> L.) | Hidroalcohólico | * 81,22 % |

*1mg/ml

1.6. Cuantificación de antocianinas por pH diferencial

Las antocianinas se cuantificaron por el método de pH diferencial, para ello se midió la absorbancia de la muestra diluida (1:10) con soluciones buffer, no encontrándose cantidad significativa de mg de antocianinas en el extracto hidroalcohólico analizado.

1.7. Desarrollo de las formulaciones fotoprotectoras

1.7.1 Pre-formulación y ensayo de formulaciones

Tabla 16. Formulación N°1: Crema base más filtros sintéticos.

| INCI/ Nombre | FÓRMULA PORCENTUAL |
|--------------------|--------------------|
| UVINUL A PLUS | 2,00% |
| UVINUL MC 80 | 5,00% |
| UVINUL T-150 | 1,25% |
| TINOSORB M | 5,00% |
| Excipientes c.s.p. | 100,00% |

Tabla 17. Formulación N°2: Crema base más filtros con 5% de extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L.

| INCI/ Nombre | FÓRMULA PORCENTUAL |
|--------------------|--------------------|
| UVINUL A PLUS | 2,00% |
| UVINUL MC 80 | 5,00% |
| UVINUL T-150 | 1,25% |
| EXTRACTO DE FRESA | 5,00% |
| Excipientes c.s.p. | 100,00% |

Tabla 18. Formulación N°3: Crema base más 5% de extracto hidroalcohólico de *Fragaria vesca* L.

| INCI/ NOMBRE | FÓRMULA PORCENTUAL |
|--------------------|--------------------|
| EXTRACTO DE FRESA | 5,00% |
| Excipientes c.s.p. | 100,00% |

Tabla 19. Formulación N°4: Crema base (placebo)

| INCI/ Nombre | FÓRMULA PORCENTUAL |
|--------------------|--------------------|
| AGUA | 74,83% |
| Excipientes c.s.p. | 100,00% |

1.7.2 De la elaboración de las formulaciones.

Tabla 20. Composición cuali-cuantitativa final de cremas elaboradas.

| Nombre | Formulaciones (%) | | | |
|-------------------|-------------------|--------|--------|-------|
| | F1 | F2 | F3 | F4 |
| UVINUL A PLUS | 2,000% | 2,000% | ----- | ----- |
| UVINUL MC 80 | 5,000% | 5,000% | ----- | ----- |
| UVINUL T-150 | 1,250% | 1,250% | ----- | ----- |
| TINOSORB M | 5,000% | 5,000% | ----- | ----- |
| EXTRACTO DE FRESA | ----- | 5,000% | 5,000% | ----- |
| EXCIPIENTES C.S.P | 100% | 100% | 100% | 100% |

Donde:

F1: Crema base + Filtros sintéticos

F2: Crema base + Filtros sintéticos + EHF 5%

F3: Crema base + EHF 5%

F4: Crema base (placebo)

1.8. Del análisis fisicoquímico y sensorial del producto terminado.

Tabla 21. Análisis fisicoquímico y sensorial de las formulaciones tópicas.

| CARACTERÍSTICAS | FORMULACIONES | | | |
|------------------|---------------------------------|--|---------------------|----------------------|
| | C1 | C2 | C3 | C4 |
| | Crema base + Filtros sintéticos | Crema base + filtros sintéticos + EHF 5% | Crema base + EHF 5% | Crema base (placebo) |
| ASPECTO | semisólido | semisólido | semisólido | semisólido |
| COLOR | blanco | Beige claro | Beige oscuro | blanco |
| OLOR | característico | Ligeramente dulce | dulce | característico |
| PH | 5,50 | 5,1 | 4,60 | 5,2 |
| VISCOSIDAD (cps) | 7820 | 8240 | 5340 | 4920 |
| CONSISTENCIA | buena | buena | buena | buena |

Las cremas se almacenaron en frascos de plástico de 50 g.

1.9. Determinación *in vitro* del Factor de Protección Solar (FPS) de las formulaciones

1.9.1. Determinación del FPS de las cremas.

Se obtuvieron valores de FPS de 10,88 para la Crema C1, 12,05 para la crema C2, 0,83 para la crema C3 y 0,16 para la crema C4.

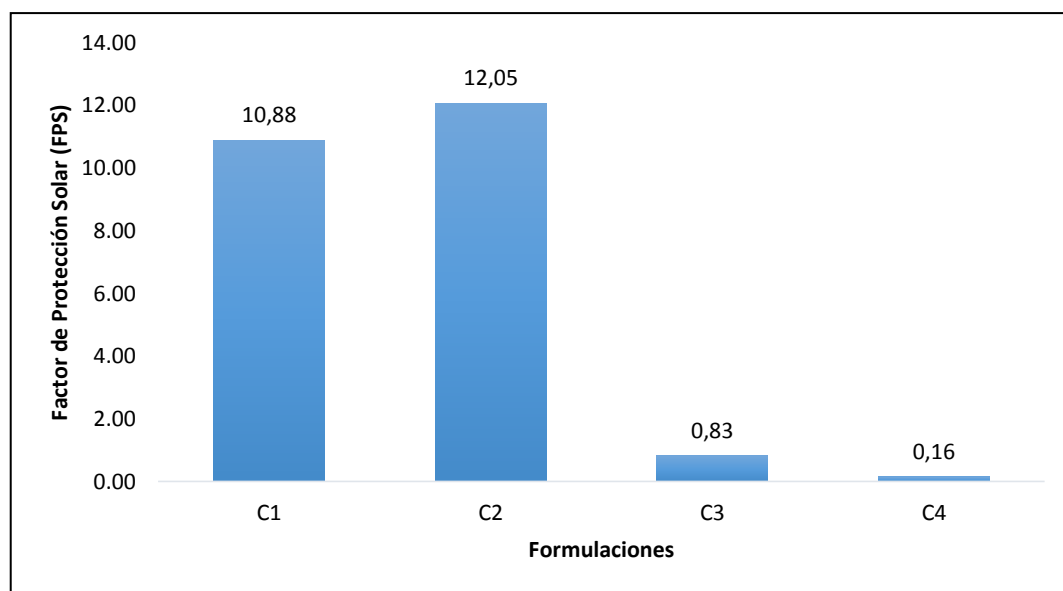


Figura 16. Valores de FPS en las cremas

Donde:

C1: Crema base + Filtros sintéticos

C2: Crema base + Filtros sintéticos + EHF 5%

C3: Crema base + EHF 5%

C4: Crema base (placebo)

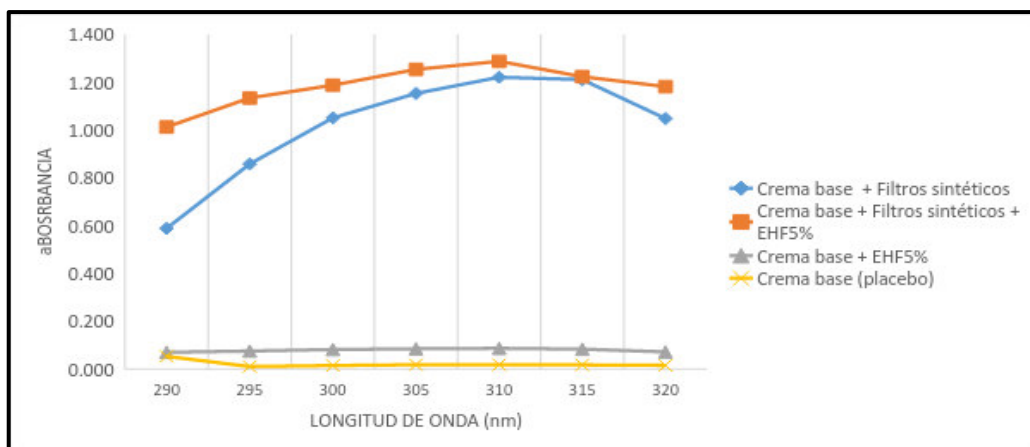


Figura 17. Análisis espectral de las formulaciones

Tabla 22. Valores FPS *in vitro* de las cremas con /sin extracto

| Longitud de Onda (nm) | EE (λ) x I(λ) | C1 | | | C2 | | | C3 | | | C4 | | |
|-----------------------|---------------|--------------|-------|-------|--------------|-------|-------|-------------|-------|-------|-------------|-------|-------|
| | | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c |
| 290 | 0,0150 | 0,603 | 0,611 | 0,551 | 0,830 | 0,957 | 0,947 | 0,071 | 0,070 | 0,069 | 0,009 | 0,070 | 0,080 |
| 295 | 0,0817 | 0,854 | 0,858 | 0,800 | 1,037 | 1,152 | 1,152 | 0,076 | 0,074 | 0,076 | 0,010 | 0,011 | 0,010 |
| 300 | 0,2874 | 1,042 | 1,051 | 1,001 | 1,154 | 1,155 | 1,155 | 0,082 | 0,080 | 0,083 | 0,015 | 0,014 | 0,015 |
| 305 | 0,3278 | 1,141 | 1,153 | 1,104 | 1,238 | 1,211 | 1,213 | 0,085 | 0,084 | 0,085 | 0,017 | 0,018 | 0,019 |
| 310 | 0,1864 | 1,206 | 1,221 | 1,172 | 1,313 | 1,272 | 1,275 | 0,087 | 0,087 | 0,086 | 0,018 | 0,018 | 0,018 |
| 315 | 0,0837 | 1,196 | 1,211 | 1,163 | 1,318 | 1,272 | 1,276 | 0,083 | 0,083 | 0,084 | 0,018 | 0,017 | 0,017 |
| 320 | 0,0180 | 1,033 | 1,048 | 1,143 | 1,184 | 1,143 | 1,147 | 0,072 | 0,069 | 0,074 | 0,015 | 0,016 | 0,015 |
| Sumatoria | | 1,096 | 1,107 | 1,060 | 1,211 | 1,202 | 1,203 | 0,083 | 0,082 | 0,083 | 0,016 | 0,017 | 0,018 |
| FPS | | 10,96 | 11,07 | 10,6 | 12,11 | 12,02 | 12,03 | 0,832 | 0,820 | 0,834 | 0,16 | 0,169 | 0,176 |
| FPS Promedio | | 10,88 | | | 12,05 | | | 0,83 | | | 0,16 | | |
| SD | | 0,25 | | | 0,05 | | | 0,01 | | | 0,01 | | |
| FPS final | | 10,88 ± 0,25 | | | 12,05 ± 0,05 | | | 0,83 ± 0,01 | | | 0,16 ± 0,01 | | |

Donde:

EE x I: Relación efecto eritemogénico (EE) versus las intensidad de la radiación (I) en cada longitud de onda.

SD: Desviación estándar

FPS: Factor de Protección Solar

a, b, c: Repetición por cada análisis

5. DISCUSIÓN

Para la obtención del extracto hidroalcohólico del fruto de fresa (*Fragaria vesca* L.) se realiza la elección de los solventes de extracción que se justifica por su composición fitoquímica, que contiene principalmente sustancias hidrosolubles como compuestos fenólicos, flavonoides, vitamina C y minerales; debido a ello, estos compuestos pueden ser extraídos en soluciones polares hidroalcohólicas. Además, Meyer R. resalta la ventaja de utilizar extractos de esta naturaleza (hidrosolubles), ya que son fáciles de incorporar en formulaciones tópicas como las cremas elaboradas en el presente estudio ⁽¹²⁸⁾. Se obtuvo características organolépticas aceptables del extracto hidroalcohólico; presentó una coloración rojiza oscura debido a las antocianinas y tocoferoles presentes en el fruto, de olor dulzaino frutal, de aspecto líquido viscoso, sabor ácido correspondiente al alto contenido de ácidos fenólicos ^(20, 129). En la marcha fitoquímica del extracto se comprobó la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides (Tabla 11), como se han identificado en estudios previos ^(17, 19, 20), los mismos que a su vez podrían estar relacionados con la actividad fotoprotectora ^(82, 91, 94). Se realizó también la identificación cromatográfica de compuestos fenólicos y flavonoides, principalmente, los que podían estar involucrados con la actividad fotoprotectora. Como estándares se utilizaron Ácido Tánico y Ácido gálico en la identificación de compuestos fenólicos y Quercetina para la identificación de flavonoides. Se obtuvo R_f similares a la de los estándares; sin embargo, se observaron manchas cromatográficas tenues en comparación con los estándares, lo que podría indicar menor concentración de estos compuestos en el extracto. A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen como posibles sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación a matrices alimenticias o productos farmacéuticos y

cosméticos son limitadas debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento. Factores como su misma estructura química, pH, concentración, temperatura, presencia de oxígeno y ácido ascórbico, y actividad de agua de la matriz determinan la estabilidad del metabolito ^(130,131). En el ensayo de antocianinas, no se detectó dicho metabolito debido a su degradación producto de la reacción del ácido ascórbico con el agua y las enzimas presentes en el fruto formándose peróxido de hidrógeno ⁽¹³²⁾. La actividad del agua del medio también puede causar degradación de las antocianinas debido a una mayor interacción entre el agua y el catión flavilio para formar la pseudobase inestable ^(133,134). Posteriormente, se evaluó el contenido de fenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu ⁽¹²²⁾. Los resultados muestran que el extracto tiene compuestos fenólicos: 137,73 mg GAE/ g de extracto (como referencia la especie *Fragaria x ananassa* reporta 250,1 mg GAE/ g de extracto), siendo necesario la dilución de la muestra para su respectiva lectura en el equipo, ya que a concentraciones mayores se puede producir alteraciones en la capacidad de absorción a la longitud de onda a la que fue analizada (Ley de Lambert-Beer) ⁽¹³⁵⁾ y en la formulación representa 688,65 mg GAE/100 g crema.

Se realizó la determinación de actividad antioxidante total del extracto hidroalcohólico, según el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). Los resultados de capacidad antioxidante fueron expresados en % de Captación de radicales libres, obteniendo un valor de 81,22 % a la concentración de 1 mg/ mL en comparación con el ácido ascórbico (Vitamina C) que presentó 87,00 %. Estos resultados indican que el extracto fue capaz de atrapar radicales DPPH de una forma dependiente de la concentración del extracto como se muestra en la Figura

15. A pesar de que existen diferentes métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*, en el presente estudio se decidió emplear el método del DPPH, ya que permite predecir el comportamiento *in vitro* pero muy aproximado de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo*. Además de presentar una óptima estabilidad bajo determinadas condiciones, por presentar un radical libre que puede obtenerse directamente sin una previa preparación, mientras que otros como el ABTS requieren ser generados tras una reacción que puede ser química, enzimática o electroquímica ⁽¹⁰⁰⁾.

La incorporación del extracto en las cremas se realizó a 38°-39°C sin mayor dificultad. Se observó compatibilidad del extracto de fresa en la formulación N° 2, además se obtuvo una crema de características óptimas, sin efecto oleoso, refrescante, coloración similar al tono natural de la piel y que no deja “efecto mimo” al ser aplicado en la piel, atribuido a los excipientes en la fórmula: dióxido de titanio y filtro Tinosorb M. En los ensayos de formulaciones se consideraron aspectos farmacotécnicos como aspecto y sensación en la piel para determinar la concentración de extracto que se incorporó en la formulación, para propósitos de la actividad fotoprotectora propuesta en el presente estudio, sin dejar de considerar el posible aumento del costo al emplear cantidades mayores de extracto además de extender el tiempo de fabricación de las formulaciones (involucra los pasos desde el tratamiento del fruto, extracción y preparación de la crema cosmética). Considerando que la actividad fotoprotectora de una formulación no sólo se debe a los filtros (sintéticos o naturales) que puedan estar presentes; sino también a los excipientes que pueden aportar un efecto fotoprotector a la fórmula debido a que algunos de ellos absorben radiación en el

rango UV ⁽¹³⁶⁾, es que se estableció una misma base para todas las cremas, para poder comparar los resultados de FPS para cada una de ellas. Para el presente estudio se estimó realizar una formulación (Formulación N° 2) que contenga no sólo el extracto de Fresa, sino también filtros solares sintéticos, con el objetivo de evaluar alguna posible sinergia entre éstos y los extractos (efecto “booster”), como se han relacionado en estudios previos Soares Dos Reis et al. y Villanueva T et al. ^(110, 111). Se eligió filtros solares basados en nuevas tecnologías de protección anti UV, altamente eficientes y disponibles en el mercado, además de ser ampliamente utilizados en fotoprotectores diversos y que además tienen estudios científicos de eficacia frente a la protección contra las radiaciones UVA y UVB. La concentración de filtros sintéticos utilizada se determinó tomando en cuenta los valores máximos permitidos de acuerdo a la Nueva Clasificación de FPS COLIPA desarrollada por la FDA ⁽¹¹⁸⁾.

Los resultados del pH de la formulación N°2 (Tabla 21), se encuentra en el rango de 4,5 y 5,9; lo cual indica que se encuentra en condiciones favorables para la piel humana ⁽¹³⁷⁾.

En cuanto a la determinación del Factor de Protección Solar (FPS), se adoptó el método *in vitro* de Mansur et. al. ⁽¹⁰⁷⁾, debido a razones económicas, prácticas y éticas. Los resultados sugieren una asociación sinérgica entre el extracto y los filtros solares sintéticos. Los valores de FPS de la Formulación N° 2 (filtros sintéticos más extracto) tuvo un valor de $12,050 \pm 0,05$ y los valores de FPS de la Formulación N° 1 (sólo filtros sintéticos) resultó $10,88 \pm 0,25$, lo cual sugiere que de acuerdo con la Nueva Clasificación de FPS COLIPA ⁽¹¹⁷⁾, se encontraría en la clasificación Medio (8-12). Esto puede deberse a que la eficacia de un filtro solar; es decir, la actividad fotoprotectora, depende de la capacidad de absorción de

energía radiante atribuida a los grupos cromóforos, siendo proporcional a su concentración, intervalo de absorción y longitud de onda donde ocurre la absorción máxima ⁽¹³⁸⁾. Además, los valores bajos de FPS en las formulaciones con extracto, podrían relacionarse con el método empleado para la determinación de la actividad fotoprotectora, puesto que este método es específico para compuestos que absorben radiación sólo en el rango UVB (290 a 320 nm) mas no en el rango UVA ni UVC; es decir, desde los 200 hasta los 400 nm ⁽¹³⁹⁾. El fruto de fresa (*Fragaria vesca* L.) brinda una alternativa para ser utilizado como sinergista de los fotoprotectores en formulaciones cosméticas por poseer en su composición compuestos con actividad biológica, dentro de los que resaltan sustancias antioxidantes, como compuestos fenólicos y vitamina C.

6. CONCLUSIONES

- Los principales metabolitos secundarios encontrados en el extracto hidroalcohólico de fruto de *Fragaria vesca* L. son los compuestos fenólicos, taninos, flavonoides; siendo el contenido de polifenoles totales de 15,150 mg GAE/g de pulpa de fresa; en el extracto seco de fruto de *Fragaria vesca* L. no se detectó presencia de antocianinas.
- La actividad antioxidante, porcentaje de captación de radical libre, obtenido en el fruto de *Fragaria vesca* L. mediante el ensayo DPPH es 81,22%, por lo que se concluye que posee una capacidad antioxidante 1,07 veces menor que el ácido ascórbico.
- La formulación tópica, la crema fotoprotectora, conteniendo filtros sintéticos y extracto hidroalcohólico del fruto de *Fragaria vesca* L. al 5% presenta valor de Factor de Protección Solar (FPS) de 12,05.
- Los estudios realizados demuestran que el fruto de *Fragaria vesca* L. contiene compuestos que confieren actividad fotoprotectora y pueden proteger la piel contra los efectos adversos de la radiación UVA-UVB.

7. RECOMENDACIONES

- ✓ Incentivar el desarrollo de formulaciones con extractos naturales con actividad fotoprotectora.
- ✓ Realizar el ensayo *in vivo* para respaldar el registro sanitario y a escala industrial para la aprobación ante la entidad regulatoria.
- ✓ Ampliar el estudio a mayores concentraciones del extracto hidroalcohólico de fresa con el fin de comprobar mayor eficacia.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Cancer Society. Atlanta: American Cancer Society; 2015 [actualizado 6 de Ene 2017; acceso 11 abr 2017]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel-tipo-melanoma/acerca/estadisticas-clave.html>.
2. Asociación Española Contra el Cáncer (aecc). España: aecc Contra el Cáncer; 2012 [actualizado 19 de Jun 2012; acceso 13 abr 2017]. Disponible en: <https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/melanoma/Paginas/incidencia.aspx>
3. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Lima: INEN; 2017 [actualizado 12 de Ene 2015; acceso 15 abr 2017]. Disponible en: <http://www.inen.sld.pe/portal/estadisticas/datos-epidemiologicos.html>.
4. Morais, J.M., O.D.H. Santos, T. Delicato, F.S. Pereira & P.A.R. Filho (2004) Cosm. Toil. (edição em português) 16(3): 82.
5. Murphy G. Photocancerogenesis strategies for prevention. Proceedings of the second European Course of Photodermatology. Dublin, Ireland. 2014.
6. Wolska H. External substances to protect from light. Dermatologia Estetyczna. 1999: 20-27.
7. Comisión de la Comunidad Andina. DECISIÓN 516. Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos. Gaceta Oficial del Acuerdo de Cartagena, N° 771, (14 de marzo de 2002).

8. De Gálvez MV. Antioxidantes en fotoprotección, ¿realmente funcionan?

Actas Dermosifiliográficas. 2010; 101(3): 197-200.

9. Darr D, Combs S, Dunston S, Manning T, Pinnell S. Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation-induced damage. *Br J Dermatol*. 1992;127: 247–53.

10. Giampieri F, Álvarez-Suárez JM, et al. Photoprotective potential of strawberry (*Fragaria × ananassa*) extract against UV-A irradiation damage on human fibroblasts. [acceso 10 de Octubre de 2014]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22304566>).

11. Vile GF, Tyrell RM. UVA radiation induced oxidative damage to lipids and proteins *in vitro* and in human skin fibroblasts is dependent on iron and singlet oxygen. *Free Radic Biol Med*. 1995;18:721–30.

12. López J. El cultivo de la fresa en Huelva. En: La fresa de Huelva. Ed: Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. España: Andalucía; 2008.

13. Stevens P. Angiosperm Phylogeny Website. Version 13. September 2013. [acceso 9 de Marzo de 2015]. Disponible en: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb>.

14. M. Kat Anderson. USDA, NRCS, National Plant Data Center c/o Plant Sciences Department, University of California, Davis, California. Edited: [acceso 12 de Marzo de 2015]. Disponible en: <http://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=FRVE>

15. Navarro C, Muñoz, C. Flora ibérica. Plantas vasculares de la Península e Islas Baleares. Real Jardín Botánico. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. 2005; 6: 88-93.
16. Hakkinen SH, Torronen AR. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Res Int* 2000; 33(5): 17–24.
17. Kähkönen MP, Hopia AI, Heinonen M. Berry phenolics and their antioxidant activity. *J Agric Food Chem*. 2001; 49: 4076–82.
18. Garcia C, Zafrilla P, Tomas FT. The use of acetone as an extraction solvent for anthocyanins from strawberry fruits. *Phytochem Anal*. 1998; 9: 274–7.
19. Aaby K, Ekeberg D, Skrede G. Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*. 2007; 55: 4395–406.
20. Mattila P, Hellstrom J, Törrönen R. Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *J Agric Food Chem*. 2006; 54:7193-9.
21. Proença S, Oliveira V, Gonçalves M, Chaud V, Villa M. Avaliação da estabilidade de emulsões O/A com fotoprotetores. *Revista Brasileira de Farmácia*. 2009; 90(2): 132-136.
22. Purim S, Leite N. Fotoproteção e Exercício Físico. *Revista Brasileira de Medicina e Esporte*. 2010; 16(3): 224-229.
23. Jeanmougin N. O encontro entre a pele e o sol. *Exposição Solar: Benefícios, riscos e prevenção*. Loures, Lusociência. 2005: 3-22.

24. Chorilli M, Otto T, Alves I, Cavallini E, Leonardi R. Avaliação do uso de protetores solares pela população rural de Piracicaba. *Revista Brasileira de Farmácia*. 2007; 88(4): 167-172.
25. International Commission on Illumination. CIE 134/1999 TC 6-26 report: Standardization of the Terms UVA1, UVA2 and UVB. [acceso 29 de Octubre de 2014]. Disponible en: http://div6.cie.co.at/?i_ca_id=611&pubid=179.
26. Cruz M, Acosta D, Barja R. Estudo de fotoestabilidade de protetores solares por espectroscopia fotoacústica. En: IX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e V Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. Universidade do Vale do Paraíba, p 1505-1508.
27. Hornung RL. "Photoprotection". En: Irvine AD, Hoeger PH, Yan AC. *Harper's Textbook of Pediatric Dermatology*, West Sussex, England, Wiley-Blackwell. 2011; 108:1-19.
28. Nichols A, Katiyar K. Skin photoprotection by natural polyphenols: Anti-inflammatory, anti-oxidant and DNA repair mechanisms. *Arch Dermatol Res*. 2010; 302(2): 1-19.
29. Rai R, Srinivas R. Photoprotection. *Indian Journal Dermatol Venereol Leprol*. 2007; 73(2): 73-76.
30. Kiguti A, Seo S, Vilela A. Radiação Ultravioleta: Uma avaliação em São Paulo. *Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente*. 2009; 4(1): 1-22.
31. Tofetti H, Oliveira R. A importância do uso de filtro solar na prevenção do fotoenvelhecimento e do câncer de pele. *Revista Científica da Universidade de Franca*. 2006; 6(1): 59-66.

32. Reyes E, Vitale A. Avances en fotoprotección. Mecanismos moleculares implicados. *Piel*. 2012; 511: 1-13.
33. K. Skotarczak; et al. Photoprotection: facts and controversies. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2015; 19: 98-112.
34. Tran N, Schulman J, Fisher E. UV and pigmentation: molecular mechanisms and social controversies. *Pigment Cell Melanoma Resources*. 2008; 21(5): 509-516.
35. Rosa B, Oliveira G, Carvalho A, Silva D, Carvalho M, Nascimento C, Peres L. Estudo espectrofotométrico da atividade fotoprotetora de extratos aquosos de *Achillea Millefolium*, *Brassica oleracea* var. *Capitata*, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* (jacq.) Cass e *Sonchus oleraceus*. *Revista Eletrônica de Farmácia*. 2008; 5(1): 101-110.
36. Souza R, Fischer M, Souza M. Bronzeamento e risco de melanoma cutâneo: revisão da literatura. *Revista Saúde Pública*. 2004; 38(4): 588-598.
37. Fonseca L, Bauer E. Efeitos da radiação UVA e UVB sobre as terminações nervosas da pele de jovens e idosos saudáveis. IV Mostra de Pesquisa da Pós- Graduação. 2009: 890-891.
38. Kerr B, McElroy T, Tarasick W, Wardle I. The Canadian Ozone Watch and UVB advisory programs. En: Quadrennial Ozone Symposium. 4-12 junio 1992, Proceedings. Virginia: National Aeronautics and Space Administration. 1994: 794-7.
39. World Health Organization, World Meteorological Organization, United Nations Environment Programme, International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection Global solar UV index: a practical guide. [acceso 08 de

Octubre de 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/uv/publications/en/UVIGuide.pdf>.

40. Schalka et al. Anais Brasileiros de Dermatologia. Brazilian Consensus on Photoprotection. 2014; 89(6): 1-74.
41. Neves K. Sol e origem da radiação eletromagnética. Revista de Negócios da indústria da Beleza. Edição temática: Proteção Solar. São Paulo. 2008; 3(7): 10-13.
42. World Health Organization, World Meteorological Organization, Ultraviolet radiation and the INTERSUN Programme. [acceso 25 de Febrero de 2016]. Disponible en: http://www.who.int/uv/intersunprogramme/activities/uv_index/en/index1.html.
43. Diffey BI. Factors affecting the choice of a ceiling in the number of exposures with TL01 ultraviolet B phototherapy. Br J Dermatol. 2003; 149: 428-430.
44. Dawe R. Ultraviolet A1 phototherapy. Br J Dermatol. 2003; 148: 626-637.
45. Jansen R, Wang Sq, Burnett M, Osterwalder U, Lim W. Photoprotection: part I. Photoprotection by naturally occurring, physical, and systemic agents. J Am Acad Dermatol. 2013; 69: 853.
46. Dain S. Sunglasses and sunglass standards. Clin Exp Optom. 2003; 86(1): 77-90.
47. Wang Q, Kopf W, Marx J, Bogdan A, Polsky D, Bart S. Reduction of ultraviolet transmission through cotton T-shirt fabrics with low ultraviolet protection by various laundering methods and dyeing: clinical implications. J Am Acad Dermatol. 2001; 44: 767-774.

48. Van A et al. Skin Cancer Risks Avoided by the Montreal Protocol Worldwide Modeling Integrating Coupled Climate, Chemistry Models with a Risk Model for UV. *Photochem Photobiol.* 2013; 89: 234-46.
49. Bais AF, Tourpali K, Kazantzidis A, Akiyoshi H, Bekki S, Braesicke P, et al. Projections of UV radiation changes in the 21st century: impact of ozone recovery and cloud effects *Atmos. Chem Phys.* 2001; 11: 7533-45.
50. Junqueira C, Carneiro J. *Histologia Básica*. 10^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A; 2004.
51. Sampaio P, Riviti A. *Dermatologia*. São Paulo: Artes Médicas; 2008.
52. Seeley R, Stephens D. Tate P. *Anatomia & Fisiologia*. 6^a ed. (M. T. Leal, M. C. Durão, and M. L. Abecasis, Trads.). Loures, Lusociência; 2005.
53. Cravo M, Moreno A, Tellechea O, Cordeiro, R. Figueiredo A. Fotoproteção na Criança. *Acta Pediátrica Portuguesa*. 2008; 39(4): 158-162.
54. Prista N, Bahia F, Vilar E. *Dermofarmácia e Cosmética*. (A. N. Farmácias, Ed.). Porto, Gráfica Maiadouro. 1992.
55. Bahia F. *Protecção Solar*. (1^a Ed.). Porto, Editora da Universidade do Porto; 2003.
56. Kullavanijaya P, Lim W. Photoprotection. *Journal American Academy of Dermatology*. 2005; 52: 937-958.
57. Gibbs K, Norval M. Urocanic Acid in the skin: A mixed blessing. *Journal of Investigative Dermatology*. 2011; 131(1): 14-17.
58. Ferreira O. *Efeitos Cutâneos da água termal de S. Pedro do Sul*. Porto, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. 2008.

59. Monteiro M. Filtros Solares em Nanocosméticos: Desenvolvimento e Validação da Segurança e Eficácia. Dissertação Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro; 2008.
60. Peña M, González F. Capacidad fotoprotectora de la Zeolita: Estudio preliminar. Instituto Superior de Ciencias Médicas de la Habana. Centro de Investigaciones Biomédicas.
61. Suber C, Ulrich C, Hinrichs B, Stockfleth E. Photoprotection in immunocompetent and immunocompromised people. *Br J Dermatol*. 2012; 167: 85-93.
62. Lautenschlager S, Wulf H, Pittelkow M. Photoprotection. *Lancet*. 2007; 9586(370): 528-37.
63. Petrazzuoli M. Advances in sunscreens. *Curr. Probl. Dermatol*. 2000; 12(6): 287-290.
64. Regulation of the Minister of Health on the lists of prohibited substances or permitted with restrictions for use in cosmetics and graphic signs placed on packaging. Appendix 5. List of UV authorized substances for use in cosmetics. [acceso 13 de Enero de 2016]. Disponible en: <http://www.nettax.pl/dzienniki/du/2005/72/poz.642.htm>.
65. Shaat A. The chemistry of ultraviolet filters In: Shaat NA. Sunscreens: regulation and commercial development. 3^a ed. Boca Raton; 2005: 217-39.
66. Ficha de datos de Seguridad Oxibenzona USP, España: Acofarma Distribución S.A. 2000. [actualizado 28 de dic 2010; acceso 15 abr 2017].

Disponibile en: <http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/1878-17636001114b4cf24bfa8f127ff75a6d83edd16c/main/files/Oxibenzona.pdf>.

67. Palm D, O'Donoghue N. Update on photoprotection. *Dermatologic Therapy*. 2007; 20: 360-376.
68. Balogh S, Velasco V, Pedriali A, Kaneko M, Baby R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2011; 86(4): 732-742.
69. Sambandan R, Ratner D. Sunscreens: An overview and update. *Journal American Academy of Dermatology*. 2011; 64(4): 748-758.
70. Wang Q, Balagula Y, Osterwalder U. Photoprotection: a Review of the Current and Future Technologies. *Dermatologic Therapy*. 2010; 23: 31-47.
71. Antoniou C, Kosmadaki G, Stratigos J, Katsambas D. Sunscreens: what's important to know. *Journal European Academy of Dermatology and Venereology*. 2008; 22: 1110-1119.
72. Moyal D. The development of efficient sunscreens. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2012; 78(7): 31-34.
73. Hexsel L, Bangert D, Hebert A, Lim W. Current sunscreen issues: 2007 Food and Drug Administration sunscreen labelling recommendations and combination sunscreen/insect repellent products. *Journal American Academy of Dermatology*. 2008; 59(2): 316-323.
74. Zepeda M. Fitocosmética: las plantas y su aplicación en cosmética. Dossier; 2008. [acceso 18 de Febrero de 2016]. Disponible en: www.revistadossier.com/p=191.

75. Nadinic J. Fitocosméticos. Más productos con atributos naturales parte 1. Revista Safybi. 2009; 124: 56-57. [acceso 18 de Febrero de 2016].
Disponibile en:
<http://www.profitocoop.com.ar/articulos/fitocosmetica%20para%20profitocoo p.pdf>.
76. Cefali C. Desenvolvimento e atividade do fitocosmético contendo licopeno para o combate à aceleração do envelhecimento cutâneo. Monografia (Mestrado). Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP; 2009.
77. Isaac B, Cefali C, Chiari G, Oliveira G, Salgado N, Corrêa A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2008; 29(1): 81-96.
78. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasil, Brasília DF 2004: 52.
79. Figueiredo K. Desenvolvimento e estabilidade preliminar de um fitocosmético contendo extrato de chá verde (*Camellia sinensis* L.) Kuntze (Theaceae). Rev. Bras. Farm. 2014; 95 (2): 770-788.
80. Kole P. et al. Cosmetics Potencial of Herbal Extracts. Natural Product Radiance. 2005; 4: 315-321.
81. Kapoor K, Dureja J, Chadha R. Herbals in the control of ageing. Drug Discov. Today. 2009; 14(19-20): 992-998.
82. Griffiths M, Maddin S, Weidow O, Marks R, Donald E, Kahlon G. Treatment of photoaged skin with a cream containing 0.05% isotretinoin and sunscreens. J. Dermatol. Treat. 2005; 16: 79-86.

83. Svobova A, Psotova J, Walterova D. Natural phenolics in the prevention of UV induced skin damage. A Review. Biomed. Papers. 2003; 147(2), 137-145.
84. Mishrar et al. Herbal Cosmeceuticals for Photoprotection from Ultraviolet B Radiation: A Review. Trop J Pharm Res, June. 2011; 10(3): 351-360.
85. Primavera G, Berardesca E. Clinical and instrumental evaluation of a food supplement in improving skin hydration. Int. J. Cosm. Sci. 2005; 27(4): 199-204.
86. Scotti L, Velasco R. Envelhecimento cutâneo à luz da Cosmetologia: estudo do envelhecimento cutâneo e da eficácia das substâncias ativas empregadas na prevenção. São Paulo: Tecnopress; 2003.
87. Gonzales Y, Muñis P, Vall V. Actividad antioxidante de la cerveza, estudios *in vivo* e *in vitro*. Centro de información Cerveza y Salud; 2001. p.57. [acceso 20 de Agosto de 2015]. Disponible en: http://www.nutricion.org/RevistaN+Dmarzo2002/VCongreso_publicaciones/ZCerveza/libroCERVEZA_8.pdf.
88. Majo D, Guardia L, Giammanco S, Neve L, Giammanco M. The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. Food Chem. 2008; 111:45-9.
89. Velioglu S, Mazza G, Gao L, Oomah B. Actividad Antioxidante y Fenoles totales y frutas selectas, vegetales y productos de grano. Journal Agric Food Chem. 1998.
90. Muñoz J, Gutierrez M. Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana Glauca*. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.

91. Cunha, A. Farmacognosia e Fitoquímica. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 2005
92. Basu P, Maier C. *In vitro* Antioxidant Activities and Polyphenol Contents of Seven Commercially Available Fruits. Pharmacognosy Res. 2016; 8(4): 258–264.
93. Andersen M, Markham R. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. Boca Raton: CRC, Taylor and Francis, 2006.
94. Martínez S, González J, Culebras M, Tuñón J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp. 2002; 17(6): 271-278.
95. Kong J. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry. 2003; 64: 923-933.
96. Cunha A. et al. Plantas e Productos Vegetais em Cosmética e Dermatologia. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 2008.
97. De Pascual S, Sanchez M. Anthocyanins: from plant to health. Phytochem. 2008; 7: 281-299.
98. Antolovich M, Prenzler P, Patsalides E, et. al. Methods for testing antioxidant activity. The royal society of chemistry. 2002; 127: 183-198.
99. Li C, Yue W, Cheng Y. Antibacterial and DPPH free radical scavenging activities of ethanol extract of propolis collected in taiwan. Journal of Food and Drugs Analysis. 2003; 11(4): 277-282.
100. Kuskoski E, et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc. Tecnol. Aliment. Campinas. 2005; 25(4): 726-732.

101. Molyneux P, The use of the stable free radical diphenyl picril hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 2004; 26(2): 211-219.
102. Gutiérrez D, Ortiz C, Mendoza A. Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. En: Simposio de Metrología. Universidad Autónoma de Querétaro Centro Universitario. 22 al 24 de Octubre 2008, Santiago de Querétaro. México.
103. FDA, Department of Health and Human Services, Sunscreen drug products for over the counter human use. Final Monograph: Proposed Rule, 21 CFR Part 352 et al, 1999. [acceso 19 de mayo de 2016]. Disponible en: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=352>.
104. Ponce F. Análisis de la nueva normativa para la comercialización de protectores solares según la Food and Drug Administration (FDA), su aplicación en Estados Unidos e impacto sobre la industria cosmética exportadora del Perú. Tesina para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012.
105. FDA Final Rule, Federal Register, Vol 76 N°117, (June 17, 2011). Sunscreen Drug Products for Over-The-Counter Human Use. Final Rules and Proposed Rules; 2011.
106. Ribeiro R et al. Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* de produtos comerciais e em fase de desenvolvimento. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro. 2004; 6(7).

107. Mansur J, Brender M, Azulay R. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. *An Bras Dermatol*. 1986; 61(2):167-172.
108. Barth L. Fator de proteção solar versus coeficiente de carga de filtros solares químicos: avaliação fotobiológica de uma mistura de filtros solares químicos. Dissertação de mestrado. Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2000.
109. Sayre M, Agin, P, Levee J, Marlowe E. A Comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas. *Photoc Photob*. 1979; 29: 550-566.
110. Soares Dos Reis et al. Preparación de un protector solar y evaluación de la acción fotoprotectora del propóleo verde del Vale do Aço, Minas Gerais, Brasil. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2009; 8(4): 282-288.
111. Villanueva T, Condezo L, Ramírez, E. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante en la cáscara de camu camu *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh. *Revista Ciencia y Tecnología de Alimentos*, Campinas. 2010; 30 (Supl 1): 151-160.
112. Inocente M et al. Actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una loción y gel elaborados con extracto estabilizado de camu camu (*Myrciaria dubia Kunth*). *Rev Soc Quím Perú*. 2014; 80 (1): 65-77.
113. Khazaeli P, and Mehrabani. Screening of sun protective activity of the ethyl acetate extracts of some medicinal plants. *Iran J, Pharm. Res*. 2008; 7: 5-9.
114. Chanchal D, Swarnlata S. Photochemoprotective Activity of Alcoholic Extract of *Camellia sinensis*. *International Journal of Pharmacology*. 2011.


115. Gasparini M. et al. A Pilot Study of the Photoprotective Effects of Strawberry-Based Cosmetic Formulations on Human Dermal Fibroblasts. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16, 17870-17884.
116. Ramirez R, Schneider J. Practical guide to sun protection. *Surg Clin Nor Amer.* 2003; 83(1): 97-107.
117. COLIPA/JCIA/CTFA-SA. "International Sun Protection Factor (SPF) Test Method; 2006.
118. FDA Regulatory Information. Maryland: Food and Drug Administration: Home: Regulatory Information: Legislation; 2012 July 07. [acceso 17 de mayo de 2016]. Disponible en: <http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Legislation/default.htm>.
119. FDA Final Rule; delay of compliance dates; request for comments, Federal Register, Vol77, N°92, (May 11, 2012). Sunscreen Drug Products for Over The Counter Human Use. Final Rules and regulations. 2012.
120. MERCOSUR/GMC/RES. "Reglamento técnico Mercosur sobre Protectores Solares en Cosméticos", N°08/11, (Agosto 2011).
121. Look O. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de Productos Naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. Perú; 1998.
122. Singleton L, Rossi J. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J. of Enol. And Vitic.* 1965; 16 (1): 144-158.
123. Peterson G. Review of the Folin protein quantitation method of Lowry, Rosebrugh, Farr and Randall, *Analytical biochemistry.* 1979; 100(2): 201-220.

124. Julkunen P. Phenolic constituents in the leaves of Bithern willows: Methods for the analysis of certain phenolics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1985; 33(2): 213-217.
125. Brand W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft. Und Technologie*. 1995; 28 (1) 25-30.
126. Giusti M, Wrolstad E. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy. In: Wrolstad RE editors. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley and Sons; 2001: 1-13.
127. Souza V. Ativos dermatológicos. *Tecnopress*. 2004; 1 (1): 63-81.
128. Meyer R. *Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetic Products*. Ed. Rosen. 2005.
129. Scalzo J, Politi A, Pellegrini N, Mezzetti B, Battino M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*. 2005; (21): 207–13.
130. Wrolstad R. Anthocyanins. In: Lauro GJ, Francis FJ, editors. *Natural Food Colorants*. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc.; 2000: 237-252.
131. Cevallos A, Cisneros L. Stability of Anthocyaninbased Aqueous Extract of Andean Purple Corn and Red Fleshed Sweet Potato Compared to Synthetic and Natural Colorants. *Food Chem*. 2004; 86: 69-77.
132. Ozkan M. et al. Degradation Kinetics of Anthocyanins from Sour Cherry, Pomegranate and Strawberry Juices by Hydrogen Peroxide. *Journal of Food Science*. 2002; 67(2): 525-529.


133. Garzón A, Wrolstad E. The Stability of Pelargonidin-based Anthocyanins at Varying Water Activity. *Food Chem.* 2001; 75: 185-96.
134. Olaya M, Castaño P, Garzón A. Effect of Temperature and Water Activity on the Stability of Microencapsulated Anthocyanins Extracted From Andes Berry (*Rubus glaucus*) and Tamarillo (*Solanum betaceum*). 2008.
135. Harris D. Análisis Químico Cuantitativo. Ed. Reverté. Barcelona. 2001.
136. Brotto L. A química dos protetores solares. En: Congreso VII SIMPEQ; 2008.
137. Tsai T, Maibach H. Water: A possible skin irritant. *Cosmetics and Toiletries.* 2000; 115(2): 32-35.
138. Silva Filho E, Sena G, Pires J. Moléculas inibidoras de radiações UV. *Cosmetic and Toiletries.* 2003; 15(1): 82-84.
139. Mansur J, Brender M, Azulay R. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An Bras Dermatol.* 1986; 61(1):121-124.

ANEXOS

ANEXO 1



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

CONSTANCIA N° 376-USM-2014

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto) recibida de **Rosa Isabel OSORIO OSCCO**, ha sido estudiada y clasificada como: ***Fragaria vesca* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: ROSALES

FAMILIA: ROSACEAE


GENERO: *Fragaria*

ESPECIE: *Fragaria vesca* L.

Nombre vulgar: "fresa"
Determinado por Blgo. Mario Benavente Palacios.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 16 de diciembre de 2014



Dr. Maydee Montoya Terreros
Dr. Maydee Montoya Terreros
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Antares 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono: (511) 471-0117, 470-4471,
470-7918, 619-7000 anexo 5703

e-mail: museohn@unmm.edu.pe
<http://museohn.unmm.edu.pe>

Figura 18. Certificación Botánica

ANEXO 2



Figura 19. Recolección del fruto *Fragaria vesca* L.



Figura 20. Preparación y obtención del Extracto de *Fragaria vesca* L.

ANEXO 3



Figura 21. Extracto hidroalcohólico de fresa.



Figura 22. Eliminación del solvente del extracto *Fragraria vesca* L. por filtración al vacío.

ANEXO 4



Figura 23. Identificación de compuestos (screening fitoquímico)

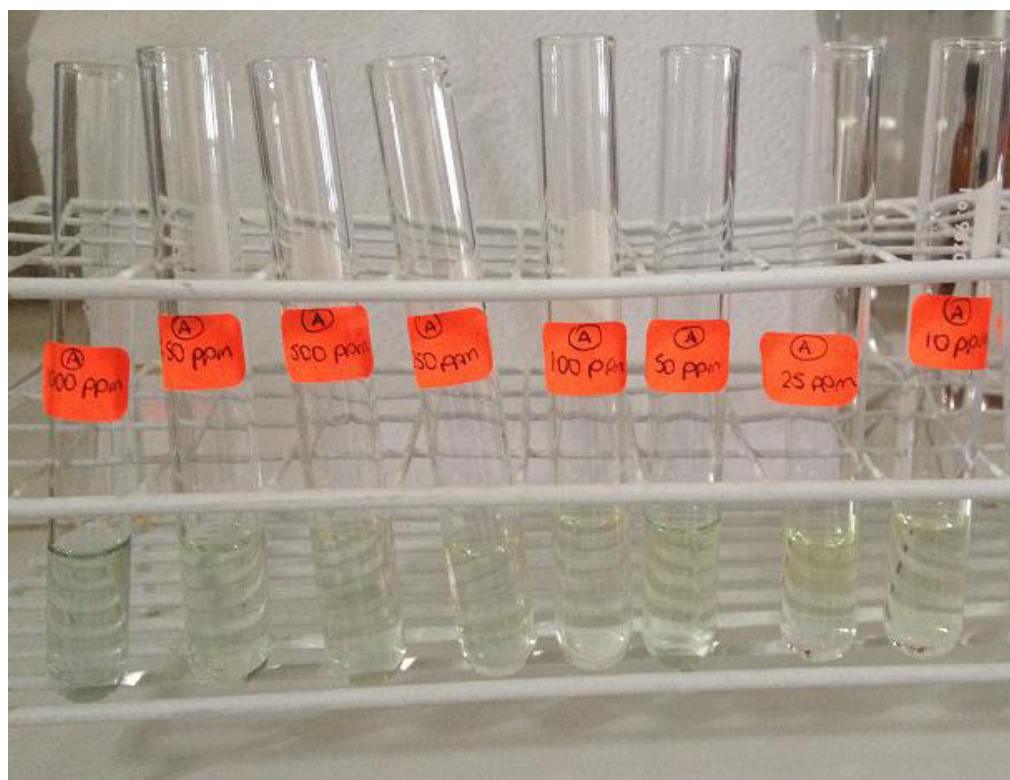


Figura 24. Cuantificación de compuestos fenólicos (Antes de la reacción)

ANEXO 5



Figura 25. Cuantificación de compuestos fenólicos (Después de la reacción)



Figura 26. Preparación del estándar (Vitamina C).

ANEXO 6



Figura 27. Determinación de la Actividad Antioxidante.

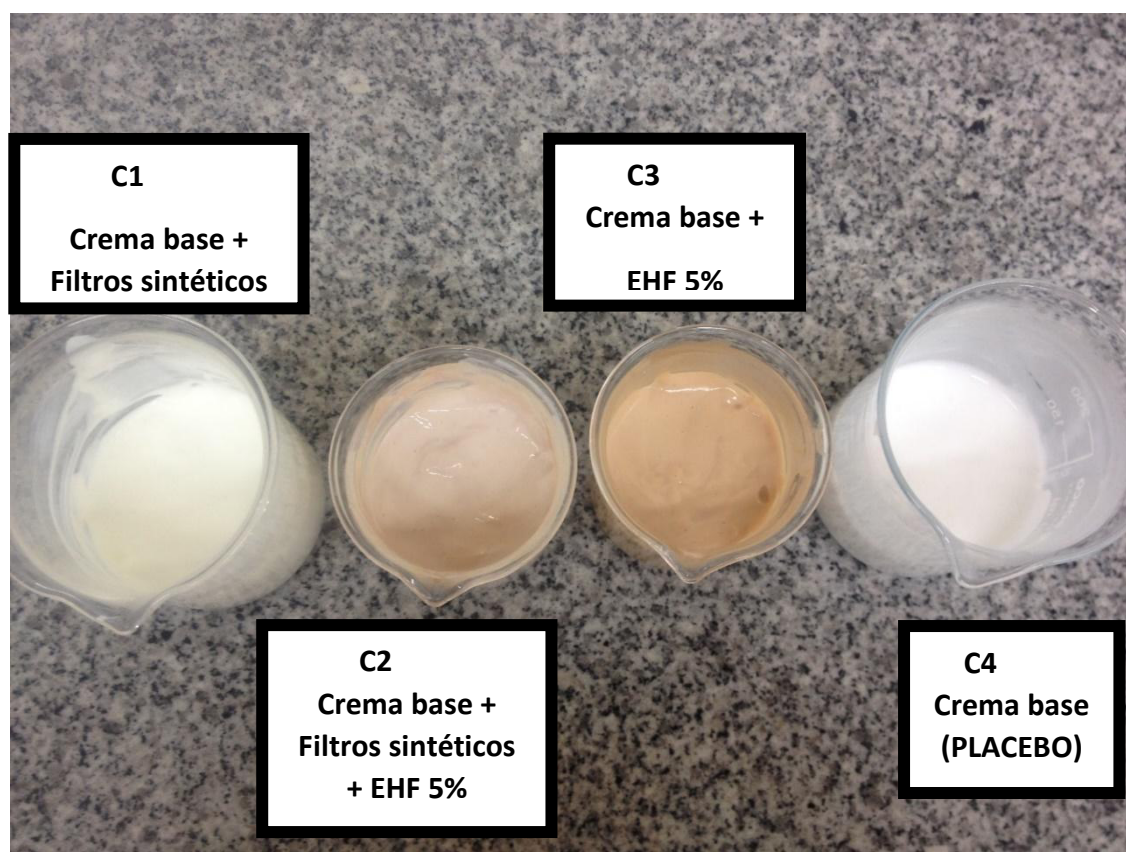


Figura 28. Cremas elaboradas con / sin extracto hidroalcohólico.

ANEXO 7



Figura 29. Crema base + filtros sintéticos.



Figura 30. Crema base + extracto hidroalcohólico de fresa 5% + filtros sintéticos.

ANEXO 8



Figura 31. Crema base + extracto hidroalcohólico de fresa 5%



Figura 32. Crema base (placebo).

ANEXO 9



Figura 33. Análisis de las cremas para determinar FPS.